DIE

METHODEN UND ERGEBNISSE DER MIKROCHEMIE IN DER BIOLOGISCHEN FORSCHUNG.

VON

A. B. MACALLUM,
TORONTO.

SONDERABDRUCK AUS: ERGEBNISSE DER PHYSIOLOGIE, HERAUSGEGEBEN VON L. ASHER UND K. SPIRO, VII. JAHRGANG.

WIESBADEN.
VERLAG VON J. F. BERGMANN.
1908.

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Psyche und Leben.

Von

Dr. **W. v. Bechterew,**
Professor in St. Petersburg.

Zweite vermehrte Auflage.

Mk. 5,60.

Auszug aus dem Inhaltsverzeichnis:

I. Das Wesen der Seelentätigkeit im Lichte philosophischer Betrachtung.
II. Die gegenwärtigen Beziehungen zwischen Psychischem und Physischem und der psycho-physische Parallelismus.
III. Der physikalische Energetismus und der Begriff der psychischen Energie.
IV. Psyche und Materialismus.
V. Die Rolle der Energie in den psychischen Erscheinungen.
VI. Das Gesetz der Energieerhaltung in Anwendung auf das Psychische.
VII. Die psychischen Funktionen der Protisten.
VIII. Bewegungswahl in der Tierwelt auf Grund früherer Erfahrung als psychisches Kennzeichen.
IX. Reizbarkeit und zweckmässige motorische Reaktion im Pflanzenreiche.
X. Unterschiede zwischen lebenden Organismen und anorganischen Körpern.
XI. Die Lebensvorgänge vom Standpunkte der Mechanisten.
XII. Die Unhaltbarkeit der herrschenden Auffassungen des Lebens.
XIII. Das Biomolekül als Grundlage der lebenden Substanz.
XIV. Stoffwechsel und Reizbarkeit als Grundeigenschaften der lebenden Substanz.
XV. Die Beziehungen zwischen Psyche und Leben.
XVI. Evolution und Zuchtwahl.
XVII. Die Bedeutung des aktiven Verhaltens der Organismen zum Milieu.
XVIII. Die Frage der Vererbung erworbener Eigenschaften.
XIX. Die Bedeutung der elektrischen Energie in der Natur und im Organismus.
XX. Das Wesen des Nervenstromes.
XXI. Die elektrischen Erscheinungen in den Nervenzentren und Nerven.
XXII. Das Verhalten der elektrischen Erscheinungen und des sogen. Aktionsstromes zu dem tätigen Nerven.
XXIII. Die elektrischen Erscheinungen am Zentralnervensystem.
XXIV. Die physikalischen Grundlagen der nervösen Leitung.
XXV. Die chemischen Grundlagen der Zellerregung.
XXVI. Die Theorie der Nervenentladungen.
XXVII. Die Quellen der Reserveenergie der Nervenzentren.
XXVIII. Psyche und Leben als Äusserungen der Reserveenergie des Organismus.
XXIX. Reizbarkeit und Amöboismus der Nervenzelle.
XXX. Die Bedeutung der Impulse für den Stoffwechsel und die Ernährung der Nervenzelle.
XXXI. Allgemeine Übersicht und Schluss.

IX.

Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung.

Von

A. B. Macallum, Toronto.

Inhalt.

	Seite
Literatur	552
I. Einleitung	562
II. Das Eisen in den Geweben und Zellen	565
1. Das Auffinden und die Lokalisation der anorganischen Eisenverbindungen in Zellen und Geweben	569
2. Der Nachweis von maskiertem oder organischem Eisen in tierischen und pflanzlichen Zellen	583
III. Kalium in tierischen und pflanzlichen Zellen	600
IV. Calcium in den Geweben	611
V. Kupfer in tierischen und pflanzlichen Geweben	617
VI. Die Verteilung der Chloride in Zellen und Geweben	620
VII. Der Nachweis und die Lokalisation des Phosphors durch mikrochemische Methoden	632
VIII. Allgemeine Bemerkungen	645

Literatur.

Eisen in den Geweben und Zellen.

1. Abderhalden, E., Die Resorption des Eisens, sein Verhalten im Organismus und seine Ausscheidung. Zeitschr. f. Biol. Vol. 39. p. 113. 1900.
2. Derselbe, Assimilation des Eisens. Zeitschr. für Biol. Vol. 39. p. 193—270. 1900.
3. Ascoli, A., Über die Plasminsäure. Zeitschrift für physiol. Chemie. Vol. 38. p. 426. 1899.
4. Barker, L. F., On the Presence of Iron in the Granules of the Eosinophile Leucocytes. Johns Hopkins Hosp. Reports. Vol. 5. p. 93. 1894.
5. Beccari, L., Sur les composés organiques de fer du foie. Arch. Ital. de Biol. Vol. 38. p. 117. 1902.

6. Bensley, R. R., The Structure of the Mammalian Gastric Glands. Quart. Journ. Micro. Sci. Vol. 41. p. 361. 1899.
7. Berry, P. R., Zur Frage der Eisenresorption. Dissertation. Zürich 1892.
8. Bunge, G. von, Über die Assimilation d[illegible] Eisens. Zeitschr. für physiologische Chemie. Vol. 9. p. 49. 1885.
9. Derselbe, Über die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings. Zeitschr. für physiol. Chem. Vol. 13. p. 399. 1899.
10. Derselbe, Weitere Untersuchungen über die Aufnahme von Eisen in den Organismus des Säuglings. Zeitschr. für physiol. Chem. Vol. 16. p. 173. 1892.
11. Derselbe, Über die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 17. p. 63. 1894.
12. Derselbe, Der Kalk- und Eisengehalt unserer Nahrung. Zeitschr. f. Biol. Vol. 45. p. 538—539. 1904.
13. Carazzi, D., Ricerche sull' assorbimento di ferro nell' Ostrea edulis. Intern. Monatsschrift für Anat. und Hist. Vol. 14. p. 114—147. 1897.
14. Carlier, E. W., Changes that occur in some cells of the newt's stomach during digestion. La Cellule. Vol. 16. p. 405. 1899.
15. Cervello, V., Absorption du fer et ses transformations chimiques dans le tube [illegible]estive. Arch. Ital. de Biol. 1896.
16. Cloetta, M., Über die Resorption des Eisens im Darm und seine Beziehung zur Blutbildung. Arch. für exp. Path. u. Pharm. Vol. 38. p. 161. 1897.
17. Derselbe, Kann das medikamentöse Eisen nur im Duo[illegible]num resorbiert werden? Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 44. p. 363—67.
18. Gaule, J., Über den Modus d[illegible] Resorption des Eisens und das Schicksal einiger Eisenverbindungen im Verdauungskanal. Deutsche med. Wochenschr. 1896. p. 289.
19. Gierke, Edgar, Über den Eisengehalt verkalkter Gewebe unter normalen und pathologischen Bedingungen. Arch. für Path. u. Anat. Vol. 167. p. 318—351. 1902.
20. Gilson, G., On the Affinity of Nuclein for Iron and other Substances. Report Brit. Assen. Adv. Sci. 1892. p. 778.
21. Glaevecke, Über subkutane Eiseninjektionen. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 17. p. 466. 1883.
22. Greenwood, M., On Structural Change in the Resting Nuclei of Protozoa. Part. I. The Macronucleus of Carchesium polypinum. Journ. of Physiol. Vol. 20. p. 426. 1896.
23. Grohe, Zur Geschichte der Melanämie nebst Bemerkungen über den normalen Bau der Milz- und Lymphdrüsen. Virchows Arch. Vol. 20. p. 306. 1861.
24. Hall, W. S, Über die Resorption des Carmferrins. Arch. für Anatomie u. Physiologie. Physiol. Abt. 1894.
25. Derselbe, Über das Verhalten des Eisens im tierischen Organismus. Arch. für Anat. und Physiol. Physiol. Abt. 1896.
26. Halliburton, W. D., The Proteids of kidney and liver cells. Journ. of Physiol. Vol. 13. p. 807. 1892.
27. Hammarsten, Zur Kenntnis der Nukleoproteide. Zeitschr. für physiologische Chemie. Vol. 19. p. 19. 1894.
28. Hari, P., Über Eisenresorption im Magen und Duodenum. Arch. für Verdauungskrankheiten. Vol. 4. 1898.
29. Harvey, B. C. H., A Study of the Structure of the Gastric Glands of the Dog and of the changes which they undergo after Gastro-enterostomy and Occlusion of the Pylorus. Amer. Journ. of Anat. Vol. 6. p. 207. 1907.
30. Hauserman, E., Die Assimilation des Eisens. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 23. p. 558. 1897.
31. Derselbe, Über den Eisengehalt des Blutplasmas und der Leukozyten. Zeitschr. für physiol. Chem. Vol. 26. p. 436. 1899.
32. Hochhaus u. Quincke: Über Eisenresorption und Ausscheidung im Darmkanal. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 37. p. 159. 1896.

33. Hofbauer, Die Aufnahme des Eisens durch die menschliche Plazenta aus dem materne Blute. Zeitschr. für physiol. Chem. Vol. 40. p. 240.
34. Hoffmann, A., Über Eisenresorption und Ausscheidung im menschlichen und tierischen Organismus. Arch. für Path., Anat. und Physiol. Vol. 151. p. 488. 1898.
35. Derselbe, Die Rolle des Eisens bei der Blutbildung. Zugleich ein Beitrag zum Wesen der Chlorose. Münch. medizin. Wochenschr. 1899. Nr. 29. p. 949.
36. Jacobi, Über Fe-Ausscheidung aus dem Tierkörper nach subkutanen und intravenösen Fe-Injektionen. Dissertation. Strassburg 1887.
37. Kunkel, Blutbildung aus anorganischem Eisen. Arch. für die ges. Physiol. Vol. 61. p. 595. 1895.
38. Derselbe, Über das Vorkommen von Fe nach Blutextravasation. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 5. p. 40. 1881.
39. Laidlaw, P. P., Some Observations on Blood Pigments. Journ. of Physiol. Vol. 31. p. 467. 1904.
40. Levene, P. A. u. Alsberg, C., Zur Chemie der Paranukleinsäure. Zeitschrift für physiol. Chemie. Vol. 31. p. 542.
41. Lubavin, Abstract of paper read before the Russian Chemical Society of St. Petersburg. Ber. d. d. chem. Gesellsch. Vol. 10. p. 2238. 1877.
42. Macallum, A. B., On the Demonstration of the Presence of Iron in Chromatin by Microchemical Methods. Proceedings Roy. Soc. Vol. 50. p. 277. 1891.
43. Derselbe, Contributions to the Morphology and Physiology of the Cell. Trans. Can. Inst. Vol. I. p. 247. 1891.
44. Derselbe, Studies on the Blood of Amphibia. Trans. Can. Inst. Vol. 2. p. 221. 1893.
45. Derselbe, On the Absorption of Iron in the Animal Body. Journ. of Physiol. Vol. 16. p. 268. 1894.
46. Derselbe, On the Distribution of Assimilated Iron Compounds, other than Haemoglobin and Haematins in Animal and Vegetable Cells. Quart. Journ. Microsc. Sci. Vol. 38. p. 175. 1895.
47. Derselbe, On a new method of distinguishing between Organic and Inorganic Compounds of Iron. Journ. of Physiol. Vol. 22. p. 92. 1897.
48. Derselbe, On the Cytology of Non-nucleated Organisms. Trans. Can. Inst. Vol. 6. p. 439. 1899.
49. Mac Kenzie, J. J., Investigation in the Microchemistry of Nerve Cells. Brit. Assen. Report. 1897. p. 822.
50. Derselbe, On the Microchemistry of Oxyphile Granules. British Association Report. 1900. p. 451.
51. Marfori, P., Di una nuova reazione per distinguere i composti organici di ferro dagli anorganici con speciale riguardo alla ferratina. Ann. d. Farmacoterapia e Chim. 1898. Nr. 10.
52. Derselbe, Sulla ferratina. Ann. de Chim. e Farmacol. 1894. p. 80.
53. Meyer, A., Reference to Molisch: Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Flora, Ergebnisse. 1892. p. 292.
54. Derselbe, De ratione qua ferrum muteter in corpore. Dorpat 1850.
55. Minkowsky and Naunyn, Über Ikterus durch Polycholie und die Vorgänge in der Leber bei demselben. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 21. p. 1. 1886.
56. Miescher, F., Briefe LXXIV, LXXVI, LXXVII and LXXVIII, veröffentlicht in: Die histochemischen und physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher, gesammelt und herausgegeben von seinen Freunden. Leipzig, Verlag F. C. W. Vogel. 1897.
57. Derselbe, Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch. Nach den hinterlassenen Aufzeichnungen und Versuchsprotokollen des Autors. Bearbeitet und herausgegeben von O. Schmiedeberg. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 37. p. 100. 1896.
58. Derselbe, Die Kerngebilde im Dotter des Hühnereies. Hoppe-Seyler, medizinisch-chemische Untersuchungen. Heft 4. 1871.

59. Molisch, H., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.
60. Derselbe, Bemerkungen über den Nachweis vom maskierten Eisen. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Vol. 11. p. 73. 1893.
61. Müller, C., Kritische Untersuchungen über den Nachweis maskierten Eisens in der Pflanze und den angeblichen Eisengehalt des Kaliumhydroxyds. S. 1. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Vol. 11. p. 252. 1893.
62. Nencki, M. and Zaleski, J., Über die Reduktionsprodukte des Hämins durch Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid und über die Konstitution des Hämins und seiner Derivate. Ber. d. d. chem. Gesellsch. Vol. 34. p. 997. 1901.
63. Perls, M., Nachweis von Eisenoxyd in gewissen Pigmenten. Virchows Arch. Vol. 39. p. 42. 1867.
64. Peters, G., Beobachtungen über Fe-Ablagerungen in den Organen bei verschiedenen Krankheiten. Deutsches Arch. für klin. Med. Vol. 32. p. 182. 1883.
65. Petit, Distribution et l'état du fer dans l'orge. Comptes Rendus. Vol. 115. p. 246. 1892.
66. Derselbe, Sur une Nucléine Végétale. Comptes Rendus. Vol. 116. p. 995. 1893.
67. Quincke, H., Über das Verhalten der Eisensalze im Tierkörper. Arch. für Anat. und Physiol. Jahrg. 1868. p. 757.
68. Derselbe, Weitere Beobachtungen über perniziöse Anämie. Deutsches Arch. für klin. Med. Vol. 20. P. 1. 1877 (auch Volkmanns Sammlung klinischer Beiträge. 1876).
69. Derselbe, Zur Pathologie des Blutes. I. Weitere Beobachtungen über perniziöse Anämie. II. Über Siderosis. Deutsches Arch. für klin. Med. Vol. 25. p. 567. 1880; Vol. 27. p. 193. 1880.
70. Derselbe, Zur Physiologie und Pathologie des Blutes. Deutsches Arch. für klin. Med. Vol. 33. p. 22. 1883.
71. Derselbe, Über Eisentherapie. Verhandlungen des Kongr. für innere Medizin. München 1895; auch Volkmanns Sammlungen klin. Vorträge. Neue Folge. Nr. 129.
72. Derselbe, Über direkte Eisenreaktion in tierischen Geweben. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 37. p. 183. 1896.
72a. Sattler, H., Über Eisenresorption und Ausscheidung im Darmkanal bei Hunden und Katzen. Arch. für Exp. Path. und Pharm., Vol. 52, p. 326. 1905.
73. Sarthou, J., Über die Rolle, welche das Eisen bei der Schinoxydase zu spielen scheint. Journ. Pharm. Chim 6. ser. Vol. 11. p. 583. 1900.
74. Schmiedeberg, O., Über das Ferratin und seine diätetische und therapeutische Anwendung. Arch. für exp. Path. und Pharm. Vol. 33. p. 101. 1894.
75. Schmey, Max, Über den Eisengehalt des Tierkörpers. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 39. p. 215.
76. Schmorl, Über feine Knochenstrukturen und über den Eisengehalt des Knochengewebes unter pathologischen Verhältnissen. Verhandl. d. deutschen pathol. Gesellsch. Vol. 8. p. 144. 1904.
77. Schneider, R., Über Eisenresorption in tierischen Organen und Geweben. Abhandl. d. k. Akad. d. Wissenschaften zu Berlin. 1888.
78. Derselbe, Neue histologische Untersuchungen über die Eisenaufnahme in den Körper des Proteus. Sitzungsber. der k. Akad. der Wissenschaften zu Berlin. 1890. Vol. 2. p. 887.
79. Derselbe, Das Eisen im Körper meerbewohnender Tiere. Naturwissenschaftl. Rundschau 4. 1889. p. 545—547.
80. Derselbe, Verbreitung und Bedeutung des Eisens im animalischen Organismus. (1) Humboldt 8. 1889. P. 337–345. (2) Verhandl. der physiol. Gesellsch. in Berlin. 1889. 18. Oktober. Arch. für Anat. und Physiol. Physiol. Abt. 1890. p. 173–176.
81. Derselbe, Die neuesten Beobachtungen über natürliche Eisenresorption. Mitteilungen d. zool. Stat. in Neapel. Vol. 12. 1895.
82. Derselbe, Verbreitung und Bedeutung des Eisens im animalischen Körper. 64. Verhandl. der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte. Halle 1891. p. 111–116.

83. Scott, F. H., On the Structure, Microchemistry and Development of Nerve Cells, with special Reference to their Nuclein Compounds. Transactions Can. Inst. Vol. 6. p. 405. 1899.
84. Schwalbe, E., Über Eisen in Karzinomzellen. Zentralblatt für Pathologie. Vol. 12. p. 874—881. 1901.
85. Spitzer, Die Bedeutung gewisser Nukleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Pflügers Arch. für die ges. Physiol. Vol. 67. p. 615. 1896.
86. Stender, Mikroskopische Untersuchungen über die Verteilung des in grossen Dosen eingespritzten Fe in dem Organismus. Dissertation. Dorpat 1891.
87. Stoklasa, J., Fonction physiologique du fer dans l'organisme de la plante. Comptes Rendus. Tome 127. p. 282. 1898.
88. Stühlen, Über den Fe-Gehalt verschiedener Organe bei anämischen Zuständen. Deutsches Arch. für klin. Med. Vol. 54. 1895. p. 248.
89. Suzuki, On the occurrence of organic compounds of iron in plants. Bull. Coll. of Agric. Tokio. Vol. 4. p. 260—266. 1901.
90. Swirski, G., Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens im Darmkanale der Meerschweinchen. Arch. für die ges. Physiol. Vol. 74. p. 466. 1899.
91. Tartakowsky, S., Die Resorptionswege des Eisens beim Kaninchen. Arch. für die ges. Physiol. Vol. 100. p. 586. 1903.
92. Umber, F., Das Nukleoproteid des Pankreas. Zeitschr. für klin. Med. Vol. 40. p. 464. 1900.
93. Woltering. Über die Resorbierbarkeit der Eisensalze. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 21. p. 186. 1895.
94. Zaleski, Studien über die Leber. I. Eisengehalt der Leber. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 10. p. 453.

Kalium in tierischen und pflanzlichen Zellen.

95. Autenrieth u. Bernheim, Über eine einfache Methode der Bestimmung des Kaliums im Harn. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 37. p. 29. 1902.
96. Billmann, E., Über die Darstellung des Natriumkobaltnitrits und seine Anwendung zum Nachweis von Kalium. Zeitschr. für anal. Chem. Vol. 39. p. 284. 1900.
97. Cattley, Robert, The localization of Potassium in malignant Tumours. The Lancet 1907. Nr. 1. p. 13.
98. Curtman, C., Natriumkobaltnitrit als Reagens auf Kalium. Ber. d. d. chem. Gesellsch. Jahrg. 14. p. 1951. 1881.
99. Erdmann, Anorganische Chemie. Bericht von Autenrieth und Bernheim. 1898 p. 630.
100. Fischer, N. W., Über die salpetrichtsauren Salze. Pogg. Annalen. Vol. 74. 1849.
101. Gilbert, K., Die Bestimmung des Kaliums nach quantitativer Abscheidung desselben als Kaliumnatrium-Kobaltnitrit. Inaugural-Dissertation. Tübingen 1898.
102. Krukenberg, Vergleichende physiologische Vorträge. Heidelberg 1886. p. 316.
103. de Koninck, L. L., Neue Reaktion auf Kali. Zeitschr. für anal. Chem. Vol. 20. p. 390. 1881.
104. Macallum, A. B., On the Distribution of Potassium in Animal and Vegetable Cells. Journ. of Physiology. Vol. 32. p. 95. 1905.
105. Derselbe, On the Inorganic Composition of the Medusae, Aurelia flavidula and Cyanea arctica. Journ. of Physiology. Vol. 29. p. 213. 1903.
106. Macdonald, J. S., The Injury Current of Nerve: The Key to its Physical Structure. The Thompson-Yates Laboratories Report. Vol. 4. p. 213. 1902.
107. Derselbe, The Structure and Function of Nerve Fibres. Proc. Roy. Soc. Vol. B. 76. p. 322. 1905.
108. Derselbe, The Structure and Function of Nerve Fibres. Proc. Roy. Soc. Vol. B. 76. p. 322. 1904—1905
109. Nawrocki, F., Über die quantitative Bestimmung des Kreatins in Muskeln. Zeitschr. für anal. Chem. Vol. 4. p. 330. 1865.

110. Tracy, M., Some Micro-chemical Reactions. II. Notes on Methods for the Localization of Potassium and Phosphorus. Journ. of Med. Research. Vol. 14. 1896.
111. Valenciennes et Freney, Recherches sur la composition des Muscles dans la série des animaux. Comptes Rendus. Vol. 41. p. 735. 1865.
112. Van Leant, Über die Abscheidung und Bestimmung von kleinen Mengen Kalium in Salzgemischen. Zeitschr. f. anal. Chemie. Vol. 40. p. 569. 1901.

Kalzium in Geweben.

113. Grandis, V. et Mainani, C., Sur une reaction colorée qui permet de révéler les sels de calcium deposés dans les tissus organiques. Arch. Ital. de Biol. Vol. 34. p. 73. 1900.
114. Dieselben, Études sur les phénomènes chimiques qui ont lieu dans le cartilage epiphysaire durant la période de l'accroissement de l'os. Arch. Ital. de Biol. Vol. 38. p. 143. 1902.
115. Harvey, W. H., Studies on the Influence of Tension in the Degeneration of Elastic Fibres of Buried Aortae. Journ. of exp. Med. Vol. 8. 1906.
116. Klotz, O., Studies upon Calcareous Degeneration. I. The Process of Pathological Calcification. Journ. of exp. Med. Vol. 7. Nr. 6. 1905.
117. von Kossa, Über die im Organismus künstlich erzeugten Verkalkungen. Zieglers Beiträge. Vol. 29. p. 163. 1901.
118. Lönnberg, J., Beiträge zur Kenntnis der Eiweisskörper der Nieren und der Harnblase. Skand. Arch. für Physiol. Vol. 3. 1901.
119. Loew, O., Die chemische Energie der lebenden Zellen. 1889. p. 32, 33.
120. Derselbe, Über die Giftwirkung der Oxalsäure und ihrer Salze. Münch. med. Wochenschrift. 1892. p. 570.
121. Derselbe, Über die physiologischen Funktionen der Kalzium- und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora 1892. p. 368.
122. Derselbe, Über die Giftwirkung von Fluornatrium auf Pflanzen. Flora. Vol. 94. p. 330. 1905.
123. Derselbe, Über die Veränderung des Zellkernes durch kalkfällende Mittel. Bull. Coll. Agriculture. Tokio Univ. Vol. 7. p. 7. 1906.
124. Molisch, H., Die Ernährung der Algen. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissenschaften zu Wien. Math.-nat. Kl. Vol. 104. p. 783. 1895.
125. Schmorl, Path.-anat. Untersuchungsmethode. 2. Aufl. Leipzig 1901.
126. Tayonaga, M., Über den Kalkgehalt verschiedener tierischer Organe. Bull. Coll. Agric. Tokio VI. p. 89. 1904.

Kupfer in tierischen und pflanzlichen Organismen.

127. Boyce and Herdman, On a Green Leucocytosis in Oysters associated with the presence of Copper in Oysters. Proc. Roy. Soc. Vol. 62. p. 30. 1898.
128. Church, A. H., Researches on Turacin, an Animal Pigment containing Copper. Trans. Roy. Soc. Vol. 159. p. 627. 1869.
129. Derselbe, Researches on Turacin, an Animal Pigment containing Copper. Proc. Roy. Soc. Vol. 51. p. 399. 1892.
130. Dastre et Floresco, Fonction martiale du foie chez tous les animaux en général Arch. de Physiol. Vol. 10. p. 176. 1898.
131. Dherè, C., Dosage de cuivre dans les recherches biologiques. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Vol. 52. 1900. p. 456.
132. Derselbe, Le cuivre hématique des invertébrés et la capacité respiratoire de l'hémocyanine. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Vol. 52. p. 458. 1900.
133. Derselbe, Quelques nouveaux documents concernant le cuivre hématique des invertébrés et la capacité respiratoire de l'hemocyanine. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Vol. 55. p. 1161. 1903.
134. Derselbe, Presence de cuivre et de fer dans l'oeuf de la sèche. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Vol. 57. p. 209. 1904.

135. Dubois, R., Sur le cuivre normal dans la série animale. Comptes Rendus de la Soc. de Biol. Vol. 52. p. 392. 1900.
136. Frédéricq, L., Recherches sur la physiologie du Poulpe commun (Octopus vulgaris). Arch. d. zool. exp. Vol. 7. p. 535. 1887.
137. Derselbe, Sur l'hémocyanine. Comptes Rendus. Vol. 115. p. 61. 1893.
138. Harles u. Bibra. Müllers Arch. 1847. P. 148 (Bericht von Boyce & Herdman).
139. Henze, M., Zur Kenntnis des Hämozyanins. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 33. p. 370. 1901.
140. Derselbe, Über den Kupfergehalt der Cephalopodenleber. Zeitschr. für physiol. Chem. Vol. 33. p. 417. 1901.
141. Herdman & Boyce, Oysters and Disease. London 1899.
142. Slowtzoff, B., Über die Bindung des Kupfers durch die Leber. Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol. Vol. 2. p. 307. 1902.
143. Toyonaga, M., Können kleine Dosen Kupfer eine chronische Kupfervergiftung hervorrufen? Bull. Coll. Agric. Tokyo Univ. Vol. 7. p. 25. 1906.

Chloride in Zellen und Geweben.

144. Adamkiewicz, Über die Behandlung von Gefässen mit Silbernitratlösung. Berl. klin. Wochenschr. 1874. p. 355.
145. Alferow, Nouveaux procédés pour les impregnations à l'argent. Arch. de Physiol. 1874. p 694.
146. Auerbach, Untersuchungen über Blut- und Lymphgefässe. Arch. für path. Anat. und Physiol. Vol. 33. p. 340. 1865.
147. Boveri, Beiträge zur Kenntnis der Nervenfasern. Abhandl. der k. bayer. Akad., math.-physik. Kl. Vol. 15. p. 421. 1886.
148. Carey Lea, On some Reactions of Silver Chloride and Brom. Amer. Journ. of Science. 3. Ser. Vol. 15. p. 189. 1878.
149. Derselbe, On Red and Purple Chloride, Bromide and Iodide of Silver, on Heliochromy and on the latent photographic Image. Amer. Journ. of Science. Vol. 33. p. 349. 1887.
150. Feltz, Recherches expérimentales sur le passage des leucocytes à travers les parois vasculaires. Journ de l'Anat. et de la Physiol. 1870. p. 33.
151. Flesch, Bemerkungen zur Kritik der Tinktions-Präparate. Zeitschr. für wissenschaftl. Mikroskopie. Vol. 2. p. 464. 1885.
152. Flinzer, M. C. A., De Argenti nitrici usû et effectû praesertim in oculorum morbis sanandis. Lipsiae 1854.
153. Frommann, Über die Färbung der Binde und Nervensubstanz des Rückenmarks durch Argentum nitricum und über die Struktur der Nervenzellen. Arch. für path. Anat. und Physiol. Vol. 31. p. 129. 1864.
154. Derselbe, Zur Silberfärbung der Achsenzylinder. Arch. für pathol. Anat. und Physiologie. Vol. 31. p. 151. 1864.
155. Golubew, A., Beiträge zur Kenntnis des Baues und der Entwickelungsgeschichte der Kapillargefässe des Frosches. Arch. für mikr. Anat. Vol. 5. p. 49. 1869.
156. Grandry, Recherche sur la Structure du Cylindre de l'Axe et des Cellules Nerveuses. Bull. de l'Acad. de Bruxelles. 2ième ser. Vol. 25. p. 304. 1868.
157. Derselbe, De la Structure intime du Cylindre de l'Axe et des Cellules Nerveuses. Journ. de l'Anat. et de la Physiol. Vol. 6. p. 289. 1869.
158. Greenwood, M., Observations on the Gastric glands of the pig. Journ. of Physiol. Vol. 5. p. 195. 1884—85.
159. Guntz, (1) Sur les sels de sous-oxyde d'argent. (2) Sur le sous-chlorure d'argent Comptes Rendus. Vol. 112. p. 861 and 1212.
160. Harpek, Über die Bedeutung der nach Silberimprägnation auftretenden weissen lücken- und spaltähnlichen Figuren in der Cornea. Arch. f. Anat. 1864. p. 222.
161. Hartmann, Über die durch den Gebrauch der Höllensteinlösung künstlich dargestellten Lymphgefässanhänge, Saftkanälchen und epithelähnlichen Bildungen. Arch. für Anat. 1864. p. 235.

162. Hausmann, Über Niederschlagsbildungen in Gallerten. Zeitschr. für anorg. Chemie Vol. 40. p. 110. 1904.
163. Henle, Bericht über die Fortschritte der Anatomie im Jahre 1866. Zeitschr. für rat. Med. 3. Reihe. Vol. 30. p. 6. 1867.
164. Henze, M., Beiträge zur Muskelchemie [illegible]oktopoden. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 43. p. 477. 1904–05.
165. His, Über die Einwirkung des salpetersauren Silberoxyds auf die Hornhaut. Schweizer. Zeitschr. für Heilkunde. Vol. 2. p. 1. 1862.
166. Derselbe, Über das Epithel der Lymphgefässe und die von Recklinghausenschen Saftkanälchen. Zeitschr. für wissenschaftl. Zool. Vol. 13. p. 455. 1863.
167. Hüter, Zur Pathologie der Gelenkflächen und Gelenkkapseln mit einem kritischen Vorwort über die Versilberungsmethode. Arch. f. Path., Anat. und Physiol. Vol. 36. p. 25. 1866.
168. Jakimovitch, Sur la Structure du Cylindre-Axe et des Cellules Nerveuses. Journ. de l'Anat. et de la Physiol. 1888. p. 144.
169. Joseph, Über einige Bestandteile der peripheren markhaltigen Nervenfasern. Sitzungsber. k. preuss. Akad. zu Berlin. 1888. p. 1321.
170. Krukenberg, Vergleichende physiologische Vorträge. Heidelberg 1886. p. 316.
171. Lavdowsky, Journ. de Médicine militaire 1884–85. Referiert von Rabl.
172. Legros, Note sur l'épithélium des vaisseaux sanguins. Journ. de l'Anat et de la Physiol. 1868. p. 275.
173 Liesegang, Chemische Reaktionen in Gallerten. Düsseldorf 1898.
174. Loew u. Bokorny, Chemische Ursache des Lebens. München 1881.
175. Macallum, A. B., On the Nature of the Silver Reaction in Animal and Vegetable Tissues. Proc. Roy. Soc. Vol. B. 76. p. 217. 1905.
176. Macallum, A. B. u. Miss M. L. Menten: On the Distribution of Chlorides in Nerve Cells and Fibres. Proc. Roy. Soc. Vol. B. 77. p. 165. 1906.
177. Mann, G. Physiological Histology, Methods and Theory. Oxford 1902. p. 266.
178. Meldola, R., The Chemistry of Photography. 1889. p. 56.
179. Morse and Pierce, Diffusion und Übersättigung in Gelatine. Zeitschr. f. physikal. Chem. Vol. 45. p. 589. 1903.
180. Obersteiner, Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Zentralorgane. Leipzig. und Wien 1888.
181. Ostwald, W., Studien über die Bildung und Umwandlung fester Körper. I. Abhandlung: Übersättigung und Überkaltung. Zeitschr. f. physik. Chemie. Vol. 22. p. 289. 1897.
182. Derselbe, A-Linien von R. E. Liesegang. Zeitschr. f. physik. Chem. Vol. 23. p. 365. 1898.
183. Derselbe, Lehrbuch der allg. Chemie. 2. Aufl. Vol. 2. p. 778.
184. Rabl, Zur Geschichte der Niederschläge bei Behandlung der Gewebe mit Argentum nitricum. Sitzungsber. der Wiener Akad., math.-naturw. Kl. Vol. 102. Abt. 3 p. 342. 1893.
185. Ranvier, Traité Technique d'Histologie. Paris 1875. p. 725.
186. Derselbe, Leçons sur l'Histologie du Systeme Nerveux. Paris 1878. p. 45.
187. von Recklinghausen, Die Lymphgefässe und ihre Beziehungen zum Bindegewebe. Berlin 1862.
188. Reeves, The Matrix of Articular Cartilage. Brit. Med. Journ. 1876. Vol. 2. p. 616.
189. Reich, Einige mikroskopische Studien mit Silbersalpeterlösungen, besonders an Gefässen des Auges. Sitzungsber. d. Wiener Akad. Vol. 67. p. 81. 1873.
190. Robinski, Recherches microscopiques sur l'épithèle et sur les vaisseaux lymphatiques capillaires. Arch. de Physiol. 1869. p. 451.
191. Derselbe, Die Kittsubstanz auf Reaktion des Argentnitric. Arch. f. Anat. 1871. p. 184.
192. Rumpf, Untersuchungen aus dem Physiol. Inst. zu Heidelberg. Vol. 11. 1882. Ref. von Rabl.

193. Schiefferdecker, Beiträge zur Kenntnis des Baues der Nervenfasern. Arch f. mikr. Anat. Vol. 30. p. 435.
194. Schwalbe, Untersuchungen über die Lymphbahnen des Auges und ihre Begrenzungen. Arch. f. mikr. Anat. Vol. 6. p. 1. 1869.
195. Schwann, Rapport de M. Th. Schwann sur Graudrys Article. Bull de l'Acad. de Bruxelles. 2ème sér. Vol. 25. p. 284. 1868.
196. Schweigger-Seidel, Über die Grundsubstanz und die Zellen der Hornhaut des Auges. Ber. d. k. sächs. Gesell. der Wissenschaft. Math.-phys. Kl. Vol. 20. p. 305. 1868.
197. Sehrwald, Die Belegzellen des Magens als Bildungsstätten der Säure. Münch. med. Wochenschr. 1899.
198. Severin, Beiträge zu der Lehre von Entzündungen. Dissertation. Dorpat 1871.
199. Soboroff, Untersuchungen über den Bau normaler und extatischer Venen. Arch. für path. Anat. und Physiol. Vol. 54. p. 137. 1871.
200. Thin, On the Structure of Hyaline Cartilage. Quart. Journ. of Micros. Sci. Vol. 16. p. 1. 1875.
201. Tillmanns, H., Untersuchungen über die Unzuverlässigkeit der Versilberungsmethode für die Histologie der Gelenke. Arch. für pathol. Anat. und Physiol. Vol. 67. p. 398. 1876.

Über Phosphor in Geweben.

202. Ascoli, A., Über den Phosphor der Nukleinstoffe. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 31. p. 156. 1900—01.
203. Bensley, R. R., The Structure of the Glands of Brunner. Decennial Publications. University of Chicago. Vol. X. p. 279. 1903.
204. Derselbe, An Examination of the Methods for the Microchemical Detection of Phosphorus Compounds other than Phosphates in the tissues of Animals and Plants. Biological Bull. Vol. 10. p. 49. 1906.
205. Bitto, Über die Bestimmung des Lezithingehaltes der Pflanzenbestandteile. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 19. p. 488. 1894.
206. Burian, Zur Kenntnis der Bindung der Purinbasen im Nukleinsäuremolekül. Ber. d. d. chem. Gesellsch. Vol. 37. p. 708. 1904.
207. Cohoe, B. A., The finer Structure of the Glandula Submaxillaris of the Rabbit. Amer. Journ. of Anat. Vol. 6. p. 167. 1907.
208. Gourlay, Proteids of the Thyroid and Spleen. Journ. of Physiol. Vol. 16. p. 23. 1894.
209. Heine, Die Mikrochemie der Mitose; zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 21. p. 494. 1895–96.
210. Derselbe, Über die Molybdänsäure als mikroskopisches Reagens Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 22. p. 132. 1896–97.
211. Held, Beiträge zur Struktur der Nervenzellen und ihrer Fortsätze. Arch. f. Anat. und Physiol. Anat. Abt. 1895. p. 396.
212. Iwanoff, L., Das Auftreten und Schwinden von Phosphorverbindungen in der Pflanze. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. Vol. 36. p. 355. 1901.
212a. Derselbe, Über die Synthese der phosphoorganischen Verbindnngen in abgetöteten Hefezellen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 50. p. 281, 1907.
213. Jolly, Contribution à l'histoire biologique des phosphates. Comptes Rendus. Vol. 125. p. 538. 1897.
214. Derselbe, Recherches sur la phosphore organique. Comptes Rendus. Vol. 126. p. 531. 1898.
215. Kossel, Über die Nukleinsäure. Verhandl. Physiol. Gesellsch. zu Berlin. Arch. für Anat. und Physiol. Physiol. Abt. 1898. p. 157.
216. Levene, P. A. and Alsberg, C., Zur Chemie der Paranukleinsäure. Zeitschrift für physiol. Chem. Vol. 31. p. 543. 1900—01.
217. Liebermann, Nachweis der Metaphosphorsäure im Nuklein der Hefe. Arch. f. d. ges. Physiol. Vol. 47. p. 155. 1890.

218. Lilienfeld, Über die Wahlverwandtschaft der Zellenelemente zu gewissen Farbstoffen. Verhandl. Berl. Physiol. Gesellsch. Arch. für Anat. und Physiol. Physiol. Abt. 1893. p. 391.
219. Lilienfeld u. Monti, Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 12. p. 410. 1898.
220. Macallum, A. B., On the Detection and Localisation of Phosphorus in Animal and Vegetable Cells. Proc. Roy. Soc. Vol. 63. p. 467. 1898.
221. Derselbe, The action of nitric acid on the phosphorus of nucleoproteids and paranucleoproteids. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. New-York. Vol. 4. p. 70. 1907.
222. Malfatti, H., Beiträge zur Kenntnis der Nukleine. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 16. p. 68. 1891.
223. Mann, G., Physiological Histology, Methods and Theory. Oxford 1902. p. 294.
224. Milroy, Über die Eiweissverbindungen der Nukleinsäure und Thymussäure und ihre Beziehung zu den Nukleinen und Paranukleinen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 22. p. 307. 1896—97.
225. Moraczewski, Über das Verhalten des Vitellins in Magnesiamixtur. Zeitschrift für physiol. Chem. Vol. 25. p. 252. 1898.
226. Derselbe, Über das Verhalten des Kaseins in ammoniakalischer Magnesiumchloridlösung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Vol. 21. p. 71. 1895.
227. Osborne, T. B. and Harris, I. F., Die Nukleinsäure des Weizenembryos. Zeitschrift f. physiol. Chemie. Vol. 36. p. 85. 1902.
228. Osborne, T. B. and Campbell, G. F., The Nucleic Acid of the Embryo of Wheat and its Protein Compounds. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 22. p. 413. 1900.
229. Pollacci, G., Sulla distribuzione del fosforo nei tessuti vegetali. Malpighia. Vol. 8 P. 361. 1894. Auszug in Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Vol. 11. p. 539.
230. Derselbe, Atti dell' inst. botan. dell' Univ. di Pavia. 2. ser. Vol. 6. p. 15. 1900.
231. Derselbe, Intorno al miglior metodo di ricerca microchimica del Fosforo nei tessuti vegetali. Atti dell' Inst. Bot. Univ. Pavia. Ser. 2. Vol. X. p. 16. 1904.
232. Raçiborski, Bot. Zeitschr. Vol. 51. P. 245. 1893 (Kritik von Lilienfeld und Montis Artikel).
233. Schmiedeberg, Über die Nukleinsäure der Lachsmilch. Arch. f. exp. Path. und Pharm. Vol. 43. p. 57. 1899.
234. Scott, F. H., On Methods supposed to localize Phosphorus in Cells. Journ. of Physiol. Vol. 35. p. 119. 1907.
235. Sherrington, C. S., Note on some Changes in the Blood of the general circulation consequent upon certain Inflammations of acute and local character. Proc. Roy. Soc. Vol. 55. p. 161. 1894.
236. Stokes, On Diamidoorthophosphoric and Diamidotrihydroxylphosphoric acids. Amer. Chem. Journ. Vol. 16. p. 123. 1894.
237. Wager, H., The Cell Structure of the Cyanophyceae. Proc. Roy. Soc. Vol. 72. p. 401. 1903.
238. Derselbe, The Presidential Address in Section K (Botany). British Assen. Report. 1905. p. 562.

Verschiedenes.

239. Bang, I., Chemische und physiologische Studien über die Guanylsäure. Zeitschr. für physiol. Chemie. Vol. 31. p. 411. 1900—01.
240. Galeotti, G., Sulla proprietà osmotiche della cellule. Riv. di Scienza biologiche. Vol. 2. Fasc. 11 and 12. 1901. (Ref. in Zentralbl. f. Physiol. Vol. 15. p. 154. 1902.)
241. Hamburger, H. J., Osmotischer Druck und Ionenlehre. Wiesbaden 1902—04. Vol. 3. p. 2, 57.
242. Justus, J., Über den physiologischen Jodgehalt der Zelle. Arch. für Path., Anat. und Physiol. Vol. 170. p. 501. 1902.
243. Derselbe, Über den physiologischen Jodgehalt der Zelle. 2. Mitteilung. Arch. für Path., Anat. und Physiol. Vol. 176. p. 1. 1904.

244. Kahlenberg, L., On the Nature of the Process of Osmosis and Osmotic Pressure with Observations concerning Dialysis. The Journ. of Physical. Chem. Vol. 10. p. 141. 1906.
245. Derselbe, Discussion on Osmosis reported in Nature. Vol. 75. p. 430. 1907.
246. Slowtzoff, H., Über die Bindung des Quecksilbers und Arsens durch die Leber. Beiträge zur chem. Physiol. und Path. Vol. 1. p. 261. 1902.

I. Einleitung.

Mikrochemie angewandt auf das Studium der tierischen und pflanzlichen Zellen ist bis jetzt ein neuer oder reichlich unerforschter Gegenstand. Ihre Anfänge liegen über ein halbes Jahrhundert zurück, aber ihre Entwickelung hatte auf die der Chemie und Biologie zu warten. Infolgedessen ist die Geschichte dieser Zeitperiode, soweit sie die Mikrochemie angeht, grösstenteils inhaltslos gewesen. Der grösste Fortschritt ist von botanischer Seite aus gemacht worden. Dies rührte teilweise von der Tätigkeit der Pflanzenhistologen her, welchen die Frage der Zusammensetzung und der chemischen Natur von vielen der untersuchten Gewebselemente und Produkte von dringendem Interesse waren, und teilweise auch von der Leichtigkeit, mit welcher viele der zu beobachtenden Substanzen mikrochemisch untersucht werden konnten. Zellulose, Stärke, Lignin, ätherische und fette Öle und Alkaloide können leicht demonstriert werden und bieten natürlich keine besondere Schwierigkeit bei der Lokalisation. Tatsächlich ist die Anzahl der Reagentien und der Methoden, welche dem Botaniker zu Gebote stehen für das Studium der Mikrochemie der Pflanzenzellen eine sehr grosse, wie aus der von Richter[1]) gegebenen Übersicht des Gegenstandes ersichtlich ist.

In den tierischen Zellen gibt es andererseits keine so grosse Verschiedenheit der Substanzen und Verbindungen, wie sie in den pflanzlichen Zellen vorhanden sind, welche sich durch die Farbe oder Niederschlagsreaktionen offenbaren. Es besteht ferner eine grosse Einförmigkeit oder vielmehr eine viel kleinere Reihe von Veränderungen bei den Produkten der tierischen Zellen, welche in morphologischer Beziehung in Betracht kommen. Eine mikrochemische Reaktion auf irgend einen Eiweisskörper in den tierischen Zellen ist mehr oder weniger auf alle darin enthaltenen Eiweisskörper anwendbar. Unter den Fetten ist die oleinsaure Form die einzige, welche Osmiumsäure in der Kälte reduziert, aber die stearinsauren und palmitinsauren Formen tun dasselbe, wenn die Temperatur erhöht wird. Von den Kohlehydraten in der tierischen Zelle ist das Glykogen das einzige, welches

[1]) Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Vol. 22, p. 194—261, und 369—411, 1905.

mikrochemisch lokalisiert werden kann. Infolgedessen ist die Reihe der Reaktionen, welche auf die organisierten Produkte der tierischen Zelle angewendet werden können, noch sehr beschränkt.

Ebenso beschränkt ist die Möglichkeit, mikrochemisch die Mineralbestandteile der tierischen Zelle zu erforschen. Die Zahl der Veränderungen der mineralischen Verbindungen der pflanzlichen Zellen ist sehr gross. In der tierischen ist die Tendenz zur Einförmigkeit fast monoton.

Es ist jedoch gerade wegen dieser monotonen Einförmigkeit der Zusammensetzung am meisten Hoffnung zu setzen auf die Lösung der Frage nach der Funktion jedes chemischen Elements der Asche. Wo es eine beständige Einförmigkeit der Mineralzusammensetzung unter variierenden Daseinsbedingungen gibt, muss es auch eine zweckmässige Auslese und besondere Ausnutzung der absorbierten Elemente geben, und man braucht dem Vorhandensein irgend eines gelegentlichen Bestandteils, entweder im ganzen oder in Teilen, keine Rechnung zu tragen. Das Jod in der Schilddrüse, Fluor in den Zähnen, Natrium, Kalium und Kalzium in bestimmten relativen Verhältnissen in dem Plasma der Wirbeltiere und Kalium in den Muskelfasern der Vertebraten und Invertebraten erläutern das Gesagte.

Deswegen ist es sicher, dass die mikrochemische Erforschung der tierischen Zelle, unterstützt durch Beobachtungen gleicher Eigenschaften in der pflanzlichen Zelle, wenn sie bestimmt und unermüdlich verfolgt wird, ein neues und aufklärendes Licht auf manche dunkle Probleme der Zellchemie wirft und dazu verhilft, manche Schwierigkeiten in der allgemeinen Biologie zu heben. Schon haben in der letzteren Hinsicht die Resultate der Mikrochemie, wie später am Schlusse dieses Essays ausführlicher erörtert werden wird, eine neue Theorie in bezug auf die physikalische Grundlage der Vererbung nahegelegt.

Die Schwierigkeiten, unter welchen die mikrochemische Forschung arbeitet, haben die Tendenz ihre Forschritte sehr zu erschweren. Die anderen Gebiete der biologischen Arbeit sind anziehender und versprechen in der Zukunft an Resultaten produktiver zu sein. Weiterer Erfolg in der mikrochemischen Forschung verlangt nicht nur eine besondere Übung in der Chemie, sondern auch Geduld, welche wappnet gegen das viele Misslingen bei der Suche nach der richtigen Methode.

Es ist daher nicht überraschend, dass von denjenigen, welche sich in das Gebiet mit der Absicht, es zu ihrem eigenen zu machen, wagen, nicht wenige entmutigt werden, wenn sie vor sich sehen das Wirrwarr und die Konfusion der beschriebenen Resultate und die Ansichten, welche als das Resultat fehlerhafter Methoden von Forschern vorgetragen werden, welche gute Biologen sein mögen, aber deren Wissen in bezug auf die Chemie in dieser Richtung sehr viel zu wünschen übrig lässt.

Aus diesen und anderen Gründen ist der Fortschritt in der Mikrochemie der tierischen Zellen ein sehr langsamer. Wie langsam er ist, kann man aus der Geschichte der Erfindung und Lokalisation eines so leicht demonstrierbaren Elementes, wie das Eisen ist, beurteilen. Im Jahre 1851 injizierte A. Meyer (54) intravenös Sulfat und Laktat von Eisen bei Katzen und gebrauchte Ammoniumsulfid, um dem blossen Auge den Ort des Eisens durch die dunkle oder grüne Färbung, welche es in der Schleimhaut des Darmes und Magens hervorrief, anzudeuten, ohne jedoch das Reagens mikrochemisch anzuwenden. Dies tat zuerst Quincke (67) im Jahre 1868. Die Anwendung von Ferrozyankalium und Salzsäure für die mikrochemische Entdeckung von Eisen wurde von Grohe (23) im Jahre 1861 eingeführt. Sechs Jahre später benutzte Perls (63) in ausgedehntem Masse die Berlinerblaureaktion, um die Verteilung des Eisens in den Pigmenten des Körpers zu untersuchen. Es wurde jedoch nicht vor der Veröffentlichung der Schneiderschen (77) Versuche im Jahre 1888 über die Verteilung des Eisens im tierischen Organismus — das sind 38 Jahre später als Meyers Beobachtungen — allgemein angewandt.

Ein anderes Beispiel für die Verzögerung des Fortschrittes der Mikrochemie ist in der Geschichte der Anwendung von Silbernitrat auf Gewebe zu finden, welche im Jahre 1854 von Coccius (152) eingeführt worden war; wenn schon es in ausgedehntem Masse nur von v. Recklinghausen (187) benutzt wurde. Die Bedeutung seiner Reaktion wurde jedoch in dem dazwischenliegenden halben Jahrhundert seit seiner Einführung als ein mikroskopisches Agens nur von Schweigger-Seidel erfasst, welcher glaubte, dass die Verbindung, welche es in den Geweben bildet, das Chlorid ist, welches unter dem Einfluss von Licht das Subchlorid wird. Die Verwirrung betreffs der Wirkung des Reagens hat daher während eines halben Jahrhunderts bestanden und hat unsere Kenntnis von der Verteilung der Chloride in den tierischen und pflanzlichen Zellen ausserordentlich verzögert.

Die Anwendung der Anilinfarbstoffe auf das mikroskopische Studium der Gewebe führte wegen des Wertes der erhaltenen morphologischen Resultate dazu, grossenteils irgend welche Neigungen, wahre mikrochemische Studien zu verfolgen, zu neutralisieren. Es ist zugegeben, dass manche in der Histologie angewendeten Farbstoffe als mikrochemische Reagentien dienten, wofür diejenigen Zeugnis ablegen, welche das Vorhandensein von einer sauren oder basischen Substanz in den Kern- und zytoplasmatischen Stoffen andeuten; aber von der grösseren Mehrheit der Farbstoffe, welche in der histologischen und zytologischen Technik benutzt werden, kann man behaupten, dass nur geringe Kenntnis echter chemischer Art durch ihren Gebrauch erworben worden ist.

Die echte Mikrochemie wird behufs wesentlichen Fortschrittes von der Nutzbarmachung aller Mittel abhängen, welche zum lokalisieren und nach-

weisen ersonnen werden können, erstens der einfachen in der Asche von tierischen und pflanzlichen Organismen gefundenen chemischen Elemente, und zweitens von der Erwerbung einer Kenntnis der Reaktionen, welche dazu dienen würden, mikrochemisch die Existenz von Atomgruppen in den Eiweisskörpern, Fetten und Kohlehydraten zu zeigen. Das Erreichen des letzteren Zieles liegt notwendigerweise in weiter Ferne. Das des ersteren liegt jedoch an der Hand und es fehlen nur genug Arbeiter.

II. Das Eisen in Geweben und Zellen.

Das Eisen kommt, wie wohl bekannt, in zwei Klassen von Verbindungen vor, gemeinhin als organische und anorganische bezeichnet. Diese Terminologie selbst ist nicht ganz genau, da die Bezeichnung „organisch" für solche Verbindungen wie Hämoglobin und die Eisen-„Albuminate" angewendet wird, während unter dem Namen „anorganisch" nicht nur die wahren Salze des Eisens und die Ferrate, sondern auch die Ferrocyanide und Ferricyanide zusammengefasst werden. Was ein Eisenalbuminat ist, ist nicht genau bekannt, aber der Name der Verbindung, ebenso wie seine Bereitwilligkeit auf die Reagentien, welche das Vorhandensein von Eisen beweisen, zu reagieren, zeigen, dass es sehr nahe mit den Salzen des Eisens verwandt ist, d. h. es ist vermutlich eine organische Verbindung, obgleich, wenn in Lösung, das Anion möglicherweise ein „organischer" Bestandteil ist.

Das Eisen im Ferrocyanid und Ferricyanid andererseits reagiert nicht auf die Reagentien, welche gewöhnlich das Vorhandensein von Eisen anzeigen, wie Ammoniumsulfid, obgleich ihre Lösungen, wenn sie angesäuert werden, sich zersetzen und langsam Niederschläge von Berlinerblau bilden. Wenn eine Lösung von Ferrocyanid oder Ferricyanid mit ihrem eigenen Volumen des gewöhnlichen Ammoniumsulfidreagens gemischt wird, keine Veränderung in Erscheinung, selbst nicht nach mehreren aber nach Monaten findet sich bei gewöhnlicher Zimmertemperatur das ganze Eisen in der Mischung in Gestalt eines Sulfidniederschlags. Diese Abscheidung kann in kürzerer Zeit erreicht werden, wenn die Mischung die ganze Zeit in einer hermetisch versiegelten Röhre bei einer Temperatur von 60° C gehalten wird.

Wie die Ferricyanide und Ferrocyanide verhalten sich die Hämoglobine und Hämatine. Hämoglobin wird nicht unter allen Bedingungen mit Ammoniumsulfid einen Eisensulfidniederschlag geben, selbst wenn es während eines Jahres in einer hermetisch versiegelten Röhre bei 60° C gehalten wird. Alkalische, wie z. B. ammoniakalische Hämatinlösungen mit Mengen von Ammoniumsulfidreagens gemischt liefern jedoch das ganze Hämatineisen als Sulfid, wenn sie in mit Glasstopfen verschlossenen Flaschen bei 60° C gehalten werden, spätestens in zwei Wochen.

Es ist daher klar, dass in dieser Verbindung die Worte „organisch“ und „anorganisch“ unbestimmt und irreführend sind und dass irgend eine andere Terminologie, welche die Ferrocyanide und Ferricyanide mit Hämatin, und die „Albuminate“ mit den Chloriden und Sulfaten klassifizieren würde dienlicher wäre. Der Ausdruck „ionisiert“ ist auf das Eisen der anorganischen Bestandteile angewandt worden, während die Bezeichnung „nicht-ionisiert“ gebraucht worden ist, um auf das Eisen solcher Bestandteile, wie Hämatin und Ferrocyanid hinzuweisen. Diese Ausdrücke werden die Schwierigkeit nicht aus dem Wege räumen, denn das Eisen von allen Eisenverbindungen ist nicht-ionisiert, wenn es sich nicht in Lösung befindet, während das Eisen[1]) der Ferrate nicht-ionisiert ist, obgleich es in Lösung auf Ammoniumsulfid reagiert.

Der einzige Ausdruck, welcher bestimmt auf jene Eisenverbindungen, in welchen das letztere nicht leicht auf Ammoniumsulfid reagiert, angewendet werden kann, ist „maskiert“. Dies schliesst in sich, dass das Eisenatom in dem Molekül fest gebunden ist, und dass demzufolge das Eisen sich, wenigstens nicht leicht, nachweisen lässt. Die Bezeichnung hat den Vorteil, dass sie nicht voraussetzt, wie und mit was das Eisen verbunden ist, Punkte, von denen wir nicht viel wissen, ausser im Falle der Ferrocyanide und Ferricyanide.

Die Schwierigkeit, welche in dem Gebrauch des Ausdruckes „maskiert“ liegt, ist, dass Ammoniumsulfid kein sehr bestimmtes Reagens ist, welches scharf zwischen den maskierten und den anorganischen Verbindungen des Eisens unterscheidet. Bunge fand, dass Hämatogen, das eisenhaltige Para-Nukleo-Protein, oder Vitellin des Eidotters, in wässeriger Ammoniaklösung, bei Hinzufügung eines Tropfens Ammoniumsulfid nur eine schwache Reaktion nach einer halben Stunde und im Laufe mehrerer Stunden eine deutliche Reaktion gibt; wenn aber das Sulfidreagens sofort in beträchtlichen Mengen beigefügt wurde, wurde die Reaktion schneller und ausgesprochener erreicht. Es ist offenbar, dass bei der Anwendung von Ammoniumsulfid Massenwirkung ein wichtiger Faktor ist, und deshalb würden manche Reagentien, in welchen dieser Faktor nicht oder nur schwach mitwirkt, unschätzbare sein, um zwischen den „maskierten“ und anorganischen Eisenpräparaten zu unterscheiden. Das einzige Reagens, welches diesen Vorzug bietet, ist eine wässerige reine Hämatoxylinlösung, welche gelblich gefärbt ist und durch die auf sie von den anorganischen Eisenverbindungen ausgeübte Wirkung in blau oder blauschwarz umschlägt, während die maskierten Eisenverbindungen keine Wirkung auf sie haben (Macallum [47]).

1) Der Verf. fand, dass Kaliumferrate nach Noesers Methode präpariert (Journ. f. prakt. Chemie, Vol. 56, p. 425) in Lösung gebracht, schnell auf verdünntes Ammoniumsulfid und auch auf reine wässerige Hämatoxylinlösungen reagieren. Das eisenhaltige Ion in diesen Verbindungen ist FeO_4.

Hämatoxylin wird jedoch nicht diese Funktion zwischen den maskierten und gewöhnlichen anorganischen Eisenpräparaten zu unterscheiden, verrichten, wenn Anione, welche eine deutliche oxydierende Fähigkeit besitzen oder welche, wie Chlor, geneigt sind, das Hämatoxylinmolekül zu ersetzen oder zu verändern, in der Lösung vorhanden sind. Jede starke Säure, selbst Essigsäure, entfärbt die durch Hämatoxylin aus Eisen oder Kupfersalzen gebildete blaue Verbindung oder verhindert, dass sie gebildet wird. Wenn deshalb Salzsäure oder Oxychlorsäure selbst nur in Spuren vorhanden ist, wird die chromogene Eigenschaft auf ein Minimum beschränkt oder vernichtet. Dies ist die Erklärung für die von Marfori (52) beobachtete Tatsache, dass kolloide Eisenlösungen, wie Ferrum Oxydatum Dialysatum, obgleich sie leicht auf Ammoniumsulfidlösungen reagieren, nicht die typische Hämatoxylinreaktion geben, d. h. dass keine Farbenreaktion erzeugt wird. Wenn jedoch, was Marfori ebenfalls gefunden hat, die Lösung mit Ammonium alkalisch gemacht worden ist, gibt es eine modifizierte Reaktion.

Der Autor hat gefunden, dass, wenn eine Quantität Ferrum Oxydatum Dialysatum sechs bis acht Wochen lang mit absolut reinem, jeden Tag gewechseltem destillierten Wasser dialysiert wird, dann gibt das Dialysat mit Hämatoxylin die charakteristische Reaktion der anorganischen Eisensalze. Die Dialyse entfernt aus der Lösung einen sehr beträchtlichen Teil des ionisierten Chlors, welches gewöhnlich die Hämatoxylinreaktion verhindert.

Ebenso wie bei dem ionisierten Chlor der kolloidalen Ferrihydratlösungen ist es sehr schwer, Metaphosphorsäure aus den Lösungen von Ferrimetaphosphat zu entfernen. Ascoli (3) bereitete Ferrimetaphosphate, indem er zu einer Metaphosphorsäure Eisenchlorid zusetzte, bis ein entschiedener Niederschlag im Begriff war sich zu bilden. Nachdem die Lösung mit Ammoniak neutralisiert war, wurde das gebildete Ferrimetaphosphat mit einer Mischung von Äther und Alkohol niedergeschlagen, und die auf diese Weise abgeschiedene Verbindung reagierte nicht, in Lösung gebracht, auf verdünntes Ammoniumsulfid, aber das stärkere Reagens greift es schnell an. Eine Erklärung, welche für dieses Resultat gegeben werden kann, ist, dass das niedergeschlagene Ferrimetaphosphat imprägniert ist mit freier Metaphosphorsäure, welche hartnäckig festgehalten wird und selbst noch nach Wochen der Dialyse in merklichen Mengen bleibt. Man kann Mengen von Ferrimetaphosphat sehr oft waschen und extrahieren, ohne endlich Waschwasser zu erhalten, welches ganz säurefrei ist. Der Verf. hat wiederholt Mengen von Ferrimetaphosphat nach Ascolis Methode bereitet, und obgleich Sorge getragen wurde, sie frei von Metaphosphorsäure zu erhalten, veränderten sich die Lösungen schnell und gaben stark saure Reaktionen. Levene und Alsberg (40) bestätigen nicht Ascolis Beobachtungen über das Metaphospha[illegible]des Eisens, denn sie fanden, dass, wenn man der Verbindung soviel [illegible]säure zusetzt, dass sie auf Kongorot reagiert, das Eisen

sich leicht nachweisen lässt. Es ist möglich, dass ein nicht unbeträchtlicher Teil des Salzes bei seiner Herstellung in der Form von Polymetaphosphaten vorhanden war, von denen manche sich in Monometaphosphate ändern, wobei sie Metaphosphorsäure frei machen, wodurch die Lösung ihren sauren Charakter erhält. Ascoli fand, dass die wässerigen Lösungen des Salzes in ihrer Reaktion sauer waren. Wenn folglich eine frisch präparierte Mischung von Ferrozyankalium und Salzsäure einer Lösung dieses Präparates zugesetzt wird, gibt es nur langsam eine Berlinerblaureaktion, welche erst nach einer halben Stunde vollständig ist. Auch wenn Hämatoxylin zugesetzt wird, wirkt die freie Säure auf sie, indem sie die letztere davor beschützt, von den Eisenionen angegriffen zu werden. Ascoli stellte zuerst die Annahme auf, dass das Eisen in den maskierten Verbindungen der Nukleoproteine auch als ein Metaphosphat gebunden ist, und dass dies erklärt, warum solche Verbindungen nicht auf Reagentien für anorganisches Eisen reagieren.

Es gibt keine Metaphosphoratomgruppe im Hämatin oder in den Ferrozyaniden, noch existiert sie, gemäss Ascolis (202) folgenden Beobachtungen in Nukleoproteinen. Infolgedessen müssen wir uns nach einer anderen Erklärung umsehen für die Trägheit der maskierten Eisenverbindungen gegenüber den Reagentien für Eisen.

Die vom Verf. gebotene Erklärung ist die, dass das Eisenatom in jeder dieser Verbindungen zwischen zwei Kohlenatomen steht, folgendermassen: $\begin{matrix}C\\C\end{matrix}\!\!>\!\!Fe—Fe<\!\!\begin{matrix}C\\C\end{matrix}$ oder $\begin{matrix}C\\C\end{matrix}\!\!>\!\!Fe—Fe<\!\!\begin{matrix}C\\C\end{matrix}$. Dies ist sicherlich ihre Stellung in den Ferrocyanid- und den Ferricyanidmolekülen, und nach Nencki und Zaleski ist das die Art und Weise, in welcher das Eisenatom im Hämatin gebunden ist. Nitrosobetanaphtol verbindet sich unter gewissen Bedingungen mit Eisen $(C_{10}H_6ONO)_3Fe$. (M. Ilinski und G. von Knorre, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 18, S. 2729, 1885.) Das Eisenatom ist vereinigt mit drei Molekülen des Nitroso-β-Naphtol durch das NO von jedem und das Atom des letzteren Elements ist verbunden nicht mit dem Kohlenatom in der Verbindung, sondern mit der NO-Gruppe. In diesem reagiert das Eisen sofort auf verdünntes Ammoniumsulfid, aber es ist unglücklicherweise unlöslich in destilliertem Wasser und so kann seine Reaktion auf Hämatoxylinlösungen nicht bestimmt werden.

Alle diese Tatsachen scheinen darauf hinzuweisen, dass das Eisen im maskierten Zustande gewöhnlich zwischen zwei Kohlenatomen gebunden ist, und dies erklärt nicht nur, warum es mit Schwierigkeit ionisiert wird, sondern auch, warum es so langsam auf Ammoniumsulfid und gar nicht auf Hämatoxylin reagiert.

Es ist notwendig, derart die Wichtigkeit des Unterschieds zwischen maskierten und gewöhnlichen Eisenverbindungen zu betonen und auf dem Wert des Hämatoxylins für diesen Zweck zu beharren. Mit diesem ausserordentlich empfindlichen Reagens für nicht maskierte Eisenverbindungen ist

es möglich, sich zu überzeugen, dass in einem gegebenen, in Alkohol gehärteten Gewebspräparat nicht die geringste Spur von anorganischen Eisenverbindungen vorhanden sein kann und auf diese Weise den Weg zu weisen, in situ das Eisen der maskierten Verbindungen frei zu machen.

Man kann keine Gewissheit in dem mikrochemischen Studium des Eisens in Zellen und Geweben erlangen, ohne eine klare Erkenntnis des Wertes, zwischen den beiden Klassen der Eisenverbindungen zu unterscheiden, zu haben.

1. Das Auffinden und die Lokalisation der anorganischen Eisenverbindungen in Zellen und Geweben.

Die Geschichte der früheren Untersuchungen über die Verteilung des anorganischen Eisens in den Geweben ist in der Einleitung mitgeteilt worden. Die frühesten tatsächlichen Beobachtungen waren jedoch die von Quincke und Schneider. Quincke (67) war im Jahre 1868 der erste, welcher zeigte, was man mit Ammoniumsulfid als einem mikrochemischen Reagens machen kann, wenn man das Schicksal der in die Venen und die Lymphgefässe injizierten Eisensalze verfolgt und entdeckte mit Hilfe sowohl dieses Reagens als des Ferrozyankaliums und der Salzsäure, dass einiges von dem Eisen in den Nierenröhrchen und ihren Epithelzellen gefunden werden kann.

In späteren Arbeiten verfolgte er die Beziehung zwischen Siderosis der Gewebe und der Zerstörung der roten Blutzellen bei perniziöser Anämie und gab im einzelnen die Resultate der mikrochemischen Untersuchungen über das Vorhandensein des Eisens in den Zellen, in den Blutkapillaren und Gallenkapillaren der Leber, in der Milz, der Niere, dem Pankreas und selbst im Knochenmark bei dieser Krankheit. Er fand auch, dass bei Injektion von grossen Mengen defibrinierten Blutes in die Gefässe des Tieres die Leberzellen und die Gallenkapillaren der Leber eine deutliche Eisenreaktion zeigten, was auch in der Milz und im Knochenmark des Schenkels und der Rippen eintrat; aber er fand in der Regel keine Eisenreaktion im Pankreas und in der Niere in diesen Fällen.

Diese Beobachtungen von Quincke über die mikrochemisch bestimmte Verteilung des anorganischen Eisens in den Geweben unter pathologischen Bedingungen wurden von Kunkel (37), Peters (64), Minkowski und Naunyn (55), Stühlen (88) u. a. fortgesetzt und erweitert, während Glaevecke (21), Jacobi (36) und Steuder (86) die mikrochemische Methode benutzten, um das Schicksal der intravenös injizierten Eisensalze zu bestimmen.

Schneiders (77) erste Beobachtungen enthalten die Verteilung des anorganischen Eisens in den Geweben mehrerer Arten, welche mehr oder weniger die hauptsächlichsten Klassen des ganzen Tierreichs, mit Ausnahme

der Echinodermen, repräsentieren. Bei seinen Untersuchungsmethoden gebrauchte er 1,2% starke Ferrozyankaliumlösungen, gemischt mit gleichen Volumen 0,5%iger Salzsäure, deren Reaktionsprodukt, wie wohl bekannt, Berlinerblau ist, welches je nach der Tiefe der Farbe die Menge der mikroskopisch nachgewiesenen Eisenverbindung angibt. Er fand, dass anorganisches Eisen weit verbreitet ist, dass viele Gewebe des tierischen Organismus unter gewissen Bedingungen das Bestreben zeigen, in sie aufgenommene Eisenverbindungen zu absorbieren und sie in einer typischen Form als ein Oxyd abzuspalten und dass Zellen, und besonders Kerne, an dieser Absorption teilnehmen. Nur Nervenelemente, d. h. Nervenzellen und ihre Axone enthalten niemals anorganisches Eisen. Alle anderen Gewebe enthalten Eisen, obgleich nicht konstant; nicht einmal bei derselben Gattung ist der Niederschlag in Menge oder Verteilung gleichförmig, wenn nicht die Lebensbedingungen dieselben sind. Bei Arten aus unterirdischem Wasser und bei solchen, welche in eisensalzreichem Wasser leben, ist das Eisen reichlich, aber ungleich, in den verschiedenen Geweben verteilt. Die Zusammensetzung des Milieus ist verantwortlich für die vorhandene Menge, denn nah verwandte Gattungen und selbst Mitglieder derselben Gattungen zeigen sehr deutliche Unterschiede in dieser Beziehung je nach dem Wohnort. Z. B. sind Exemplare von Stentor Roeselii und Paramaecium Aurelia, welche aus schlammigem Seeboden kommen, reich an anorganischem Eisen, während Exemplare von Stentor coeruleus und Paramoecia, welche an anderen Orten gesammelt wurden, wenig oder gar kein Eisen enthielten. Bei Exemplaren von Zyklopen aus Höhlensümpfen und unterirdischen Wassern war die Eisenreaktion im Darm deutlich, während sie in diesem Organ bei Exemplaren von Zyklopen von oberirdischen Wohnorten schwach war. Bei den ersteren wurde eine gleichförmig tiefe Imprägnation der ganzen Membran des Eiersackes gefunden, welche man nicht bei Formen von gewöhnlichen Orten erhält.

Ein besonderer Zug war die Imprägnation von solchen trägen Formen wie Setae, die Berührungspunkte von Segmenten bei Aussenskeletten bei Crustacaeen und der Zähne der Wirbeltiere im allgemeinen. Die Schleimhaut der Eingeweide bei Invertebraten und Vertebraten enthält Mengen von aus der Nahrung absorbierten Eisens. Schneider fand auch in der Leber der Wirbeltiere, fast ohne Ausnahme, mehr oder weniger reichlich Eisen, und in der Milz, der Niere und selbst in den reproduzierenden Organen war es in beträchtlichen Mengen vorhanden.

In Formen, welche ein halbes Jahr lang in Wasser, das reich an auf gelöstem Eisen ist, gehalten wurden, gaben die Nieren und die Testikeln den Beweis seines Vorhandenseins.

Eisensalze sind gewöhnlich in gewissen Formen vorhanden und besonders, wenn Eisenverbindungen in dem Wasser des Wohnorts vorkommen oder mit der Nahrung erhalten werden. Alles Eisen der Gewebe dringt nicht

von den Eingeweiden her ein, denn die peripheren Gebilde und das periphere Drüsensystem bei Vertebraten und Invertebraten enthalten mehr oder weniger Eisen. Die Hautschichten der Würmer, Gamonoriden, Mollusken und Fische sind eisenhaltig. Die Hautdrüsen beim Erdwurm (Lumbricus), die Kiemenzellen und Schleimzellen bei den Fischen, sowohl als die Seitenlinie bei letzteren (Anguilla, Petromyzon und Cobitis fossilis) zeigen oft das Vorhandensein von Eisen. Obgleich anorganische Eisenverbindungen in den Ovarien- und Testikelngeweben in gewissen Formen gefunden werden, sind nie welche in ihren Produkten gefunden worden, obgleich es in den Kernen der Zellen des Plastoderms bei manchen Exemplaren von Osniskus gewiss vorhanden war. Andererseits gestatten die schützenden Decken und Membrane der Eier, (Zyklopen, Daphnia und Oligochätes), die Statoblasten der Wintereier (Daphnia) und Larven (Phyganiden und Bryozoa und Caelenterates), obgleich sie mit Eisen imprägniert sind, nicht dem letzteren nach dem Innern, welches eisenfrei ist, durchzupassieren.

Wenn auch der Darmkanal nicht der einzige Weg für das Eindringen von Eisensalzen in die Gewebe ist, so ist es doch der Hauptweg für eine Anzahl von Formen (Tubifex, Lumbrikus, Lumbrikulus), und das auf diese Weise resorbierte Eisen findet seinen Weg zur Leber, zu den peripheren Drüsen, den Bindegeweben der Muskeln und schliesslich zu Teilen des Aussenskelettes, die Borsten mit eingeschlossen (Setae). Bei dieser zentrifugalen Verteilung des Eisens, bei welcher das Blut die allerwichtigste Rolle spielt, gibt es nur gelegentlich eine Unterbrechung, wie bei den Wirbeltieren, wenn das Eisen aus dem Blut und der Leber durch den Magensaft und die Galle in den Darm zurückkommt.

Später (1889) entwickelte Schneider (78) noch weiter die Ansicht, dass es von dem Darm aus eine zentrifugale Verteilung des Eisens gibt, und dass die Gewebe all ihr anorganisches Eisen auf diesem Wege erhalten. In früheren Untersuchungen über Proteus fand er bemerkenswerte Eisenmengen, besonders in der Leber, der Milz, dem Darm und in den Skelettteilen, während die Hautgebilde und das Muskelsystem eisenfrei waren; aber bei dem Exemplar, welches die Basis für die ausführlichen Beobachtungen lieferte, war die Verteilung etwas verschieden. Die Knochenteile des Skelettsystems waren deutlich eisenhaltig, aber in den Kernen der Zellen des Hyalinknorpels war kein besonderer Niederschlag. Das Vorkommen von Eisen in den Zahnkronen lässt auf eine schützende oder härtende Funktion als Ursache für den Eisenniederschlag schliessen.

Die Leber war reich an Eisen, das gleichförmig in dem Bindegewebe verteilt war, aber auch in den dunkelgefärbten Anhäufungen, welche gewöhnlich als Pigmentmassen angesehen werden, aber hauptsächlich aus Ferrooxyd zusammengesetzt sind. In den Leberzellen war keine bemerkbare Resorption von Eisensalzen. In der Milz waren auch das Bindegewebe und be-

sonders die Trabukeln imprägniert und teilweise auch die Malpigischen Körper. Der Darmtraktus zeigte in diesem Falle, abgesehen von der Submukosa und den serösen Schichten, keine beachtenswerte Resorption, was von dem Mangel an Eisen im Wasser des Aquariums, in welchem das Tier zuletzt gelebt hat, herrührte. In den Skelettgeweben gaben die Ligamenta intermuscularia eine tiefe Eisenreaktion und eine weniger tiefe, aber noch deutlichere wurde in den Muskelfasern, im Perimysium und im Sarkolem erhalten. Die hauptsächlichste Konzentration war an den Zügen zwischen den peripheren Muskelfasern.

Ein beachtenswerter Zug in allen Geweben, mit Ausnahme natürlich der sekretorischen Zellen und der Nervenzellen, war die Imprägnation des Zellkerns. Selbst diejenigen des Muskels zeigten, entgegen den früheren Beobachtungen, zeitweise eine deutliche Eisenreaktion. Auch die Kerne in den Lymphzellen, in der Haut die Epithelzellen und ihre Kerne und in den Hautdrüsen die Kerne und die Sekretionen waren eisenhaltig.

Das Vorhandensein von Eisen in den Kernen, welches durch Ferrozyankalium und Salzsäurelösungen nachweisbar ist, hob Schneider immer wieder in seiner frühesten Arbeit hervor. Bei gewissen Arthropoden (Gammariden und besonders diejenigen aus unterirdischen Quellen, Oniscidae, gelegentlich) und bei Wirbeltieren wurde dieselbe Reaktion, wie in den Kernen von gewissen Sekretionszellen (Rektum und Kloake von Salamandra), in den Kernen des Hyalineknorpel (Proteus), in den Kernen der Oberflächenzelle der Kiemenfasern (Petromyzon) beobachtet. Bei Proteus gaben die Kerne gewisser Leberzellen, Hautdrüsen, Bindegewebszellen und Blutkörperchen eine deutliche Eisenreaktion.

In Schneiders letzten Untersuchungen (81) über die Eisenresorption ist das Vorhandensein von Eisen in den Kernen gewisser Gewebszellen bei einigen Seearten (Squilla mantis, Clavellina Rissvana, Adamsia Rondeletii und Cerebratulus roseus) besonders bemerkt und beiläufig dient es als Grundlage für den Skeptizismus in bezug auf die Genauigkeit von Macallums Beobachtungen über das Vorkommen von maskierten Eisenverbindungen in den Kernen der tierischen und pflanzlichen Zellen, denn die anorganischen Eisenverbindungen, welche Schneider bei den erwähnten Kernen fand, können, wie er zu glauben scheint, die Quelle des Eisens sein, welches Macallum, indem er frisch bereitetes Ammoniumsulfid benutzte und es während einer längeren Zeit auf einzeln isolierte tierische und pflanzliche Zellen bei einer Temperatur von 50—60° C anwendete, immer in den Kernen fand.

Gilson (20) gelang es nach Macallums Methode Eisen in Kernchromatin zu finden und er erhielt es auch, nachdem er eine gewisse Zeitgang anderen Reagentien, z. B. Schwefelsäure und schwefelige Säureanhydrid, gebrauchte. Da er jedoch fand, dass tote Kerne eine starke Affinität

für anorganische Eisenverbindungen haben und sie absorbieren, und da dieses Eisen selbst nach sechs Tagen durch Extraktion mit Bungescher Flüssigkeit, von welcher angenommen wird, dass sie nur anorganische Eisenverbindungen extrahiert, nicht entfernt wird, war Gilson zu zweifeln geneigt, ob das durch Macallums Methode in toten Kernen aufgedeckte Eisen auch im lebenden Kern existiert.

Es ist hier angebracht hervorzuheben, dass das Chromatin der toten Kerne die Kraft hat, Eisensalze aufzunehmen und diese Eigenschaft ist einer der Hauptfaktoren in Heidenhains Eisenhämatoxylin-Farbreaktion. Wenn ferner Eisensalze in Spuren in der Flüssigkeit, welche gebraucht wird, um Gewebe zu härten, vorhanden sind, so geben die Kerne des letzteren eine mehr oder weniger deutliche Reaktion für Eisen. In geringerem Grade haben das Zytoplasma und die Zellmembrane, besonders bei pflanzlichen Geweben, eine Affinität für Eisenverbindungen, und dies ist der Grund für den Irrtum, zu welchem Molisch (59) durch den Gebrauch von Kaliumhydrat als ein Reagens zur Befreiung des Eisens aus all seinen maskierten und unmaskierten Verbindungen in den pflanzlichen Geweben, geführt wurde. Denn wie er nachher (60) fand, enthält Kaliumhydratlösung geringe Menge von Eisen, welches durch die in dieselbe gebrachte Gewebe absorbiert wird.

Es besteht auch kein Zweifel, dass die Wände von Glasgefässen an stark reagierende chemischen Reagentien, wie Säuren, ätzendem Kalium usw. [C. Müller (61)], und in manchen Fällen auch an gewöhnliche Salzlösungen, Spuren von Eisensalzen abgeben könne, besonders wenn man die Flüssigkeiten eine lange Zeit in den Gefässen stehen lässt. Infolgedessen herrscht ein gewisser Skeptizismus betreffs der Möglichkeit dieses Eisen auszuschliessen, oder es ausser Betracht zu lassen, wenn man die Verteilung des Eisens in den Geweben untersuchen will. Würde man diesen Skeptizismus vorherrschen lassen, ohne den Versuch zu machen, ihm entgegenzutreten oder die Schwierigkeiten, welche die Ursache dazu sind, aus dem Wege zu räumen, so würde alle [illegible]ndte Bemühung, die Verteilung eines der wichtigsten Elemente in d[illegible]ischen und pflanzlichen Zellen zu bestimmen, gelähmt werden.

Beim Studium über die Verteilung des Eisens in den Geweben entstehen grosse Schwierigkeiten, welche von der Tatsache herrühren, dass Eisen alles verunreinigt, was bereitwillig zugestanden werden kann. Diese Schwierigkeiten können jedoch überwunden werden. Es ist möglich, Eisen aus den Reagentien, in denen man Flüssigkeiten härtet, auch aus den Gefässen auszuschliessen und frei von „Verunreinigungseisen" zu erhalten, was einen klaren Beweis für das ständige Vorhandensein von maskiertem Eisen im Kernchromatin geben sollte und auch gibt, d. h. von Eisen, welches nicht von dem herrührt, was von den Kernen in anorganischer Form absorbiert wird und nach dem Tode der Kerne in letzteren als maskiert erscheint. Es

ist wirklich angebracht, hier nicht einmal so sehr danach zu fragen, ob das durch Macallums Methode in den Kernen aufgedeckte Eisen wirklich das der maskierten Verbindungen in diesen Strukturen ist und nicht von absorbierten anorganischen Verbindungen des Elementes herrührt, sondern ob nicht ein wenig von dem von Schneider gefundenen und von ihm als anorganisch angesehenen Eisen von Eisen stammte, welches durch das angewandte Reagens frei gemacht wurde, im Leben aber in den Kernen als maskierte Verbindung vorhanden war. Das Eisen wird nicht gleichmässig in allen maskierten Verbindungen festgehalten. In manchen wird es leicht durch gewöhnliche Reagentien für Eisen frei gemacht. Das Eisen des von Bunge aus dem Gelb des Hühnereies isolierten Hämatogens reagiert in wenigen Minuten auf verdünntes Ammoniumsulfid. Wenn ferner einer Menge derselben Verbindung, welche in einer Ammoniaklösung aufgelöst wird, etwas Kaliumferrozyanidlösung zugesetzt und die Mischung mit übermässig viel Salzsäure behandelt wird, entsteht ein weisser Niederschlag, der blau wird, und zwar um so schneller, je grösser die Konzentration und die Menge der zugesetzten Säure ist. Quincke und der Verf. haben gefunden, dass beim Hämatogen im frischen Eigelb sofort die Eisenreaktion nach Hinzufügung von Ammoniumsulfid eintritt und vom Verf. auch, dass das Chromatin der pflanzlichen Zellen sein Eisen viel bereitwilliger als das Chromatin der tierischen Zellen abgibt. Andererseits gibt Hämoglobin absolut nicht sein Eisen an Ammoniumsulfid noch an Mischungen von Lösungen von Kaliumferrozyanid oder Salzsäure ab.

Diese Tatsachen gehören zur Sache, wenn wir die Wirkung der Reagentien betrachten, welche Schneider benutzte, um das Eisen nachzuweisen. Quincke glaubt, dass Salzsäure und Ferrozyanidkalium nicht sicher bei der Untersuchung der Verteilung des Eisens in den Geweben verwandt werden kann, weil sich die Ferrozyanidverbindung in der Gegenwart von Salzsäure zersetzt und so aus sich selbst Berlinerblau ergibt. Es ist nicht notwendig dies anzunehmen, aber es ist notwendig, dass die erwähnten Reagentien mit Vorsicht gebraucht werden, denn es können zweifellos in manchen Kernen Eisenverbindungen sein, welche das Eisen an die reagierende Mischung abgeben. Deshalb ist man geneigt, wie Quincke es getan hat, auf dieses letzte Mittel, Ammoniumsulfid, zurückzukommen oder, was das beste wäre, sich zu vergewissern, ob die Kerne auf reine wässerige Hämatoxylinlösung reagieren. Sollten sie es nicht tun, dann ist kein anorganisches Eisen vorhanden und wenn folglich eine Mischung von Salzsäure und Ferrozyankalium in einem solchen Präparat eine Berlinerblaue Reaktion gibt, muss man sie als von der Freimachung maskierten Eisens herstammend erklären.

Dass dies nicht unwichtig ist, kann aus der Tatsache geschlossen werden, dass Schneider genau und bestimmt Eisen in den Kernen der Lymphzellen gewisser Amphibien nachweisen konnte, erst nachdem diese in Chrom-

azetatmischungen gehärtet worden waren und er stellt ausdrücklich fest, dass das auf diese Weise enthüllte Eisen durch Chromsäure für Ferrozyanid und Salzsäuremischung zugänglich gemacht wurde. Aus des Verfassers eigenen Beobachtungen geht ohne irgend welchen Zweifel hervor, dass die Chromazetatmischung, welche dazu benützt wird, tierische und pflanzliche Gewebe zu härten, eine gewisse Menge von Eisen im Kern von seinen maskierten Verbindungen frei macht. Ähnlich wirkt unreiner Alkohol, wenn er als Präservativ gebraucht wird, besonders nachdem er Monate gewirkt hat. Wenn man Alkohol eine lange Zeit stehen gelassen hat, wirkt er, wenn er Essigsäure oder irgend welches Mineralreagens enthält, mehr oder weniger auf die maskierten Eisenverbindungen im Kern. Daher ist es bei der Bestimmung, ob die Kerne anorganische Eisenverbindungen enthalten, von Bedeutung, zu wissen, ob sie in absolut reinem Alkohol oder in Alkohol, welcher Spuren von Säure oder Mineralsalze enthält, gehärtet worden sind.

Die Frage, ob reiner Alkohol die Verteilung von Eisensalzen verändert, ist von Hall (25) aufgeworfen worden, welcher fand, dass nach Härtung der Leber und Milz mit Alkohol weniger nachweisbares Eisen in diesen Organen vorhanden war als in Teilen dieser Organe, die frisch mit Ammoniumsulfid behandelt, gefunden wurde und er schloss daraus, dass, wenn Alkohol allein auf ein Gewebe angewendet wird, er ihm Eisen extrahiert. Infolgedessen benutzte er zu Härtungszwecken Alkohol, welchem Ammoniumsulfid zugesetzt wurde: 30 Teile NH_4SH auf 70 Teile Alkohol, bei der Darmschleimhaut nur 5 Teile NH_4SH und 25 Teile Wasser auf 70 Teile Alkohol für die Leber, Milz und Niere. Das Vorhandensein von Ammoniumsulfid, denkt er, verhindert die Diffusion in die härtende Flüssigkeit und obgleich die tiefe Reaktion von Sulfid oder Eisen ganz oder teilweise verschwinden kann, wenn das Präparat nachher zum Zwecke, dünne Schnitte zu bereiten, behandelt wird, so kann es in letzterer durch Hinzufügen von frischem Ammonium reproduziert werden oder das Eisen darin kann durch Behandlung mit Ferrozyankalium und Salzsäure aufgedeckt werden.

Abderhalden (1) fand auch, dass Alkoholhärtung so die Eisenreaktion in den Geweben beeinflusst, dass es unmöglich wird, einen wahren Begriff von der Verteilung des Eisens darin zu haben. Dies scheint Tartakowskys (91 Ansicht zu sein, denn nachdem er verschiedene Fixierungsmethoden versucht hatte, benutzte er hauptsächlich die Hallsche Flüssigkeit, aber er fand merkwürdigerweise, dass 4%ige Formalinlösung, die auch von Swirski (90) benutzt wurde, im ganzen gute Resultate gab. Die gewöhnlichen Eisensalze sind ebenso löslich in Formalin wie in Alkohol.

Der Verfasser hat häufig die verschiedenen Fixierungsmethoden angewendet, um das in einem Gewebe lokalisierte Eisen zu offenbaren und er ist, infolge der erhaltenen Resultate, nicht anzunehmen bereit, dass absoluter Alkohol einem Gewebe irgend welche vorhandenen Eisensalze entzieht. Die

anorganischen Eisenverbindungen, welche in Geweben vorkommen, sind in der Regel solche wie z. B. Phosphorkarbonate, Oxyde und vielleicht auch manchmal Hydrate, welche in keinem beachtenswerten Masse in absolutem Alkohol löslich sind. Über das Vorkommen von Laktaten oder Eisenchloriden in Geweben gibt es, obgleich es möglich ist, nicht den geringsten Beweis. Wenn man folglich absoluten Alkohol tagelang auf Gewebe, wie z. B. auf die Schleimhaut, das Duodenum, wirken lässt, ist die Möglichkeit einer Veränderung in der Verteilung des darin enthaltenen Eisens so entfernt, dass es beim Resumieren nicht zählen darf.

Es gibt jedoch noch eine andere Seite der Sache, die man nicht aus dem Auge verlieren darf. Es ist nicht ratsam, beim Untersuchen der Verteilung des anorganischen Eisens der härtenden Flüssigkeit ein Reagens, welches selbst in geringstem Masse die organischen Eisenverbindungen angreift und die letzteren als anorganisches Eisen befreit, zuzusetzen. Dies tut Ammoniumsulfid in manchen Fällen von maskierten Eisenverbindungen nicht schwach, sondern deutlich, wie es die Wirkung dieses Reagens auf frisches Eigelb zeigt, wo das Eisen des Bungeschen Hämatogen freigemacht wird und als Sulfid die Masse des Eigelbs dunkelgrün färbt (Macallum und Quincke). Dies geschieht auch, wenn Alkohol, wie in Halle Flüssigkeiten, mit Ammoniumsulfid assoziiert ist und schliesslich das Eidotter bei nachfolgender Behandlung Eisen abzugeben scheint, so als ob es vorher in der anorganischen Form der Bindung gewesen wäre. Abderhalden stellt ausführlich fest, dass Ammoniumsulfid nicht in allen Fällen ein passendes mikrochemisches Reagens für Eisen ist. Er fand, dass ganz frische Gewebe damit erst nach vielen Stunden eine deutliche Reaktion geben, oft jedoch gar keine Reaktion; aber wenn etwas Ammoniak zugesetzt wird, erscheint die Reaktion in allen diesen Fällen.

Da die Gewebe maskierte Eisenverbindungen enthalten, in welchen das Eisen mit verschiedenen Festigkeitsgraden festgehalten wird, ist es klar, dass die anhaltende Wirkung von Ammoniumsulfid, sei es in alkoholischer Lösung oder allein, um so leichter zersetzbare Verbindungen angreift und damit Verwirrung in den Versuch bringt, die Menge und die Verteilung anorganischer Verbindungen zu bestimmen.

Dies geschieht nicht, wenn absoluter Alkohol allein benützt wird, um die Gewebe vollständig zu härten, ehe man sie der Wirkung von Ammoniumsulfid unterwirft. Der Wert des Alkohols in dieser Beziehung wird im Falle des Eidotters gezeigt, welcher, wenn er damit mehrere Tage behandelt wird, keine sofortige Veränderung erzeugt, obgleich, wenn Ammoniumsulfid zugesetzt wird, eine sehr geringe durch Anwendung des Reagens während mehrerer Tage entwickelt werden kann.

Die Annahme, dass alle maskierten Eisenverbindungen ihr Eisen zurückbehalten, wie es das Hämoglobin in Gegenwart von allen ausser den aller-

mächtigsten Reagenzien macht, muss beseitigt und die Tatsache klar begriffen werden, dass bestimmte maskierte Verbindungen durch Ammoniumsulfid, Ferrozyankalium und Salzsäure und selbst durch Unreinheiten, Säuren und Alkalien, welche in dem zum Härten und Konservieren der Präparation benutzten Alkohol sein können, besonders wenn man diese unreinen Alkohole eine lange Zeit wirken lässt, angegriffen werden können. Durch das Übersehen dieser Tatsache wurde Bunge dazu geleitet, Salzsäure und 96%igen Alkohol, 90 Volumen und 25% starke Salzsäure 10 Volumen zu benutzen, um das anorganische Eisen dem Eidotter zu entziehen und das maskierte unberührt zu lassen. Der Verf. fand, dass die Bungesche Flüssigkeit eines der Reagenzien ist, welches am leichtesten die maskierten Eisenverbindungen angreift und das Eisen frei macht.

Aus diesem Grunde muss man vorsichtig mit der Annahme der Behauptung, dass anorganische Eisenverbindungen in den Kernen der tierischen Zellen vorkommen, sein. Abderhalden fand, dass in den Epithelzellen des Duodenums bei Tieren, welchen Eisensalze per os dargereicht werden, obgleich das Zytoplasma schwer mit dem absorbierten Eisen beladen war, die Kerne immer frei davon waren. Es kann natürlich nicht geleugnet werden, dass pathologische Kerne mit anorganischen Eisenverbindungen imprägniert werden können, aber ob Kerne normal sind, welche Eisensalze enthalten, ist eine offene Frage. Die Salzsäure des Reagens, welches Schneider benützte, um mikroskopisch das Vorhandensein von Eisen nachzuweisen, zersetzte möglicherweise maskierte Verbindungen, in welchen das Eisen schwach gehalten wird und infolgedessen kann die durch diese Kerne gegebene Berliner Blau-Reaktion nicht für das Vorhandensein von anorganischem Eisen oder für die Resorption der anorganischen Eisenverbindungen durch die Kerne beweisend sein. Dies ist die uns aufgezwungene Erklärung, wenn wir das in den Kernen der Blastodermzellen des Eies bei Exemplaren von Oniscus gefundene Eisen betrachten, welche aus einer bestimmten Örtlichkeit stammen. Die Tatsache, dass in den Wirbeltiergeweben die Zellkerne (Leber, Milz und Niere) normalerweise frei von anorganischen Verbindungen sind, während das umgebende Zytoplasma davon überladen ist, zeigt, dass der normale Kern keine solche Eisenverbindungen aufnimmt. Mit einer Mischung von Salzsäure (0,5%) und Ferrozyankalium (1,5%) kann man die Berliner Blau-Reaktion in frischem Eidotter erhalten, wo wir doch durch Bunges Beobachtungen wissen, dass es dort nur schwache Spuren anorganischen Eisens gibt.

Selbst wenn wir annehmen, dass das gebrauchte Reagens die anorganische Eisenverbindung in den Kernen nicht zersetzt, ist doch die Frage berechtigt, ob das Material, in welchem die Kerne eisenhaltig erschienen, in einem langsam härtenden Stoff aufbewahrt wurde, so dass die Zersetzung der eisenhaltigen Kernsubstanz oder die Diffusion der anorganischen Eisen-

salze aus dem reichlich eisenhaltigen Zytoplasma dieser Zellen in die Kerne nach dem Tode des Gewebes verhindert wurde.

Aus diesen Gründen muss man notwendigerweise seine Meinung noch reservieren, ob anorganische Eisensalze in normalen Kernen vorkommen können und ehe die Frage endgültig entschieden werden kann, wäre es notwendig, alles Material, in welchem Kernresorption anorganischer Eisensalze vorkommen kann, zu präparieren und sorgfältig zu untersuchen. Eine derartige Untersuchung würde alle möglichen Kritiken in bezug auf die Methoden, welche zur Erhaltung des Gewebes und zum Nachweis des Eisens auf mikrochemischem Wege benützt werden, in Betracht zu ziehen haben.

Schneider (72) erörtert die Frage, ob anorganisches Eisen die Rolle des Sauerstoffüberträgers in den Geweben spielt und er weist darauf hin, dass die Unmöglichkeit der Bestimmung, ob die Ferro- und die Ferrisalze nebeneinander in frischen Geweben vorkommen, es schwierig gestalte, diese Frage zu lösen. Er fand nichtsdestoweniger später (76), dass das Eisen mit wenigen Ausnahmen in den Kiemen der Tunicaten, der Mollusken, Crustacaeen, in den Kiemenbäumen der Holothuroiden vorkommt; bei jenen Tieren, welche selbständiger Atmungsorgane entbehren, in Teilen des Körpers, welche den Gaswechsel zu bewerkstelligen mithelfen, wie bei der Haut oder den Fühlfäden gewisser Würmer und Anthozoen, in den Ambulacra vieler Echinodermen und den Sarkoden der Schwämme.

Im Jahre 1885 äusserte Bunge (8) die Ansicht, dass anorganische Eisenverbindungen nicht in der Darmschleimhaut resorbiert werden, und zwar infolge der Umwandlung des Eisens im Darminhalt in Sulfide durch die alkalinischen Sulfide, welche aus der bakteriellen Zersetzung im Darm hervorgehen, und dass die einzigen durch die Darmschleimhaut resorbierten Eisenverbindungen diejenigen sind, welche zu der maskierten Varietät gehören. Bunge erklärte ferner die Wirkung der als Heilmittel bei Anämie und Bleichsucht angewandten anorganischen Eisenpräparationen nicht als von ihrem absorbiert und assimiliert werden, wie gewöhnlich angenommen wird, herstammend, sondern von ihrer Schutzwirkung für maskierte Eisenverbindungen gegenüber Zersetzung, indem sie sich mit den Schwefelalkalien, deren reichliches Vorkommen im Darm bei diesen Krankheiten angenommen wird, verbinden und so dieselben aus dem Wege räumen. Es scheinen viele Tatsachen diese Hypothese zu unterstützen und es ist ferner schwierig, durch quantitative Analyse zu beweisen, dass das Eisen der durch den Mund gegebenen Eisensalze in diesen Fällen an Quantität abnimmt, wenn es mit der Nahrung durch den Darmkanal hindurchgeht. Bunge wies darauf hin, dass es in unserer Nahrung gleichförmige Mengen von eisenhaltigen Nukleinen gibt, welche als die Quelle des Hämoglobins im Blute dienen soll, ebenso

wie das von ihm aus dem Dotter des Hühnereis isolierte „Hämatogen" die Quelle des Hämoglobins im Blute des Hühnchens ist; er fand, dass Verbindungen wie diese beständig in unserer Nahrung vorhanden sind, welche bei der Resorption dazu dienen, den Körpergeweben das nötige Eisen zu liefern, und deren Zersetzung die medizinisch gegebenen Eisensalze, durch Vereinigung mit den Sulfiden im Inhalt des Darmtraktus, verhindern.

Zur Erhärtung dieser Ansicht hob Bunge (9) unter anderem hervor, dass das neugeborene Säugetier das Leben mit einem grösseren Eisenvorrat in seinen Geweben im Verhältnis zu den anderen Elementen als in seiner Nahrung, z. B. in der Milch enthalten ist, beginnt, aber dass, wenn das junge Tier wächst und das Körpergewicht zunimmt, sich natürlich die Menge des Eisens vermindert. Bunge erklärt das als von der Tatsache herrührend, dass diese organischen Eisenverbindungen zur Entwickelung notwendig sind, und dass, wenn das Neugeborene nicht mit einem grossen Vorrat hämatogenen Materials in seinen Geweben ausgestattet wäre, es nicht von der Milch herstammen könnte, denn die bakterielle Zersetzung, welche die Milch im Darm erfährt, würde die eisenhaltigen Nukleine der Milch, selbst wenn diese hinreichend reichlich an Menge wären, verhindern für die Resorption nützlich zu sein; d. h. dass der grosse Vorrat organischen Eisens im Embryo der Verschwendung, welche durch Zersetzung im Darm eintritt, vorbeugt.

Die fast universelle Annahme von Bunges Ansicht führte eine Zeitlang zu vielen Bemühungen welche gemacht wurden, um grosse Mengen organischer Eisenverbindungen zu präparieren, welche gegeben wurden, um anämische Zustände zu verbessern. Ferratin, Carniferrin, Hämogallol, Ferrosomatose usw. wurden als Präparate verbreitet, von denen behauptet wurde, sie würden, resorbiert, als Vorstufe von Hämoglobin dienen.

Macallum (44) wies im Jahre 1890 nach, dass Hämoglobin durch Umbildung vom Kernchromatin des Hämatoblasts, wenigstens bei den Amphibien herstammt; daraus folgt, dass jede von dem Darm resorbierte zu Hämoglobin werdende assimilierte, maskierte Eisenverbindung, ehe sie letzteres bildet, als Kernchromatin des Hämatoblasts dienen muss. Die Hauptpunkte in Bunges Ansicht waren, dass anorganisches Eisen nicht resorbiert wird und dass, selbst wenn es resorbiert würde, es sich nicht, wie die Erfahrung der klinischen Medizin fordert, dass es sollte, mit Eiweisskörpern verbindet oder verbinden kann, um Hämoglobin zu bilden.

Dem ersten dieser Punkte begegneten die Resultate von Macallums (45) Beobachtungen aus dem Jahre 1893. Dieser Forscher fand, dass bei Meerschweinchen, welche bei ihrer gewöhnlichen Kost gehalten wurden, die Spitzen der Zotten des oberen Teiles des Duodenum, wenn sie mit Ammoniumsulfid oder mit Ferrozyankalium und Salzsäure behandelt werden, einen sehr deutlichen und unfehlbaren Beweis für die Resorption des Eisens aus dem Duodenalinhalt zeigen, und dass, wenn man die Tiere ungefähr während

einer Woche ohne Nahrung liess, die Zotten immer noch einen deutlichen Beweis vom Vorhandensein resorbierter anorganischer Eisenverbindungen zeigten. Wenn ferner die Kost tagelang aus Eidotter bestand, reagierten die Duodenalzotten ähnlich, wobei sie den entscheidenden Beweis lieferten, dass das Eisen, welches sie enthielten, aus der Leber stammte.

Nur selten wurde gefunden, dass irgend welches nachgewiesene Eisen in den Epithelzellen war, während es sonst auf Gruppen der Lymphzellen beschränkt war, welche das äusserste Ende des Zottenraumes umgeben.

Macallum fand auch, dass wenn die „Peptone", Phosphate, Chloride und Sulfate von Eisen dem Tiere durch den Mund gegeben wurden, die Fläche der Eisenreaktion in den Zotten des Darmes sehr vergrössert wurde und wenn die gegebene Dosis gross war, nahmen die Zotten des ganzen Dünndarmes daran teil und besonders zeigten die dünneren mittleren Teile ebenso wie die Oberflächenzellen eine deutliche Eisenreaktion. Dabei waren die Lymphzellen an dem Ende des Milchgefässes schwer mit Eisen beladen. Das absorbierte Eisen wurde nach der Leber geführt, eine Tatsache, welche sich besonders zeigte, wenn Sulfat in grossen Mengen gegeben wurde, da die Peripherie der Läppchen eine intensive Eisenreaktion gab, teilweise diffus durch die Leberzellen verbreitet und teilweise in die Granula in demjenigen Teil jeder Zelle, welcher an die Leberkapillare angrenzt, lokalisiert. Wenn jedoch die gegebene Dosis verhältnismässig klein war, dann wurde die Übertragung des Eisens nach der Leber durch die Menge eisenhaltiger Leukozyten in den Blutkapillaren der Leberläppchen angedeutet.

Macallum fand, dass die aktiven Träger der Eisenresorption in der Darmschleimhaut die Epithelzellen sind. Die Eisensalze wandern durch die Gänge in dem gestreiften Saume der Epithelzellen und werden die ganze Länge der Zelle hindurch nach dem unteren Ende transportiert, wo eine viel deutlichere Eisenreaktion als anderswo in der Zelle häufig beobachtet wurde, als ob das Zellprotoplasma durch innere Sekretion das resorbierte Eisen absonderte. Die Lymphzellen nehmen etwas des auf diese Weise transportierten Eisens auf und halten es zurück, während der Rest in den Blutstrom der Kapillaren passiert und nach der Leber weggeschwemmt wird. Die Lymphzellen, welche in die Epithelschicht eindringen, können direkt Eisen aus dem Darminhalt aufnehmen.

Vermittelst der mikrochemischen Methode fand Macallum nach Anwendung von Eisensulfat, dass das Lumen der Lieberkühnschen Drüsen Eisen in leicht nachweisbaren Mengen enthält. Dies wurde als ein Zeichen ausgelegt, dass jene Drüsen Eisen abscheiden. Die Nieren gaben eine sehr geringe diffuse Reaktion, die nicht auf irgend einen Teil der Organe beschränkt war. Eisenausscheidung wurde auch durch die Zelle bewirkt.

Diese Beobachtungen in bezug auf die Eisenresorption im Darm sind auch mikrochemisch durch diejenigen von Quincke (71) 1895, Hochhaus

und Quincke (32), Gaule (18), Hall (25) 1896, Hoffmann (34), Hari (28) 1898, Swirski (90) 1899, Cloetta (17), Abderhalden (2) 1900 und von Tartakowsky (91) 1903 bestätigt worden. Swirski sah jedoch, obgleich er eine Eisenreaktion in dem Schleim des Lumen der Lieberkühnschen Drüsen fand, dies nicht als ein Beweis für die ausscheidende Wirkung, wie Macallum, dieser Drüsen an, sondern er erklärte das Resultat als von dem Übergang der Eisenverbindungen aus der Darmhöhle in die Mündung und das Lumen der Drüsen herrührend. Sattler (72a) andrerseits verwirft Swirskis Erklärung der Abstammung des Eisens, welches er auch in den Lumen dieser Drüsen fand, und er behauptet, dass sein Vorhandensein von aktiven exkretorischen Vorgängen auf Seiten der Lieberkühnschen Zellen herrührt

Abderhaldens Arbeit ist darin von besonderem Interesse, dass sie aus Bunges Laboratorium stammend, ein bestimmter Beweis dafür ist, dass letzterer seine Ansicht in bezug auf die Nicht-Resorption anorganischer Verbindungen im Darm verlassen hat. Er fand, dass nicht nur die anorganischen Verbindungen, selbst wenn sie in geringen Dosen gegeben werden, resorbiert werden, sondern dass auch das anorganische Eisen in der Nahrung genügt, um die Assimilation der normalen Hämoglobinmenge hervorzubringen.

Der zweite oben erwähnte Hauptpunkt in der Bungeschen Theorie, nämlich, dass anorganisches Eisen nicht assimiliert wird, um Hämoglobin zu bilden oder in irgend eine maskierte Verbindung in den Geweben einzugehen, wird sich vielleicht schliesslich nicht als haltbar erweisen. Laidlaw (39) hat entdeckt, dass es möglich ist Eisen im Hämatoporphyrin zu ersetzen, indem man zu letzterem, wenn es in verdünntem Ammoniak aufgelöst und auf einem Wasserbad bei Luftausschluss warm gehalten wird, eine gewisse Menge von Stokescher Flüssigkeit, welche Eisen-Sulfat enthält, und einige Tropfen Hydrazinhydrat zusetzt. Nach ein bis zwei Stunden, während welcher man immer acht geben muss das durch Verflüchtigung verlorene Ammoniak zu ersetzen und durch das Hydrazinhydrat die Mischung völlig reduziert zu erhalten, zeigt die Lösung die deutlichen Absorptionsstreifen des Hämochromogen. Wenn man die Lösung an der Luft schüttelt, wird sie in alkalisches Hämatin verwandelt, welches in reiner Form isoliert werden kann.

Da Hämatoporphyrin zeitweise ein Bestandteil des Gewebes ist, wie es sich durch die Ausscheidung von Mengen im normalen Urin zeigt, könnte es sein, dass etwas von dem absorbierten Eisen unter gewissen Bedingungen sich mit ihm vereinigen und Hämatin bilden kann. Die blosse Möglichkeit hiervon lässt die Frage nach dem Schicksal wenigstens eines Teiles der resorbierten anorganischen Verbindungen aufkommen.

Abderhalden (2) hat gefunden, dass wenn maskierte Eisenverbindungen, Hämoglobin und Hämatin eingeschlossen, Tieren per os gegeben

werden, sie absorbiert werden und infolgedessen eine deutliche Zunahme in der Hämoglobinmenge im Blute des Tieres entsteht, aber dieser resorbierte Teil dieser Verbindungen gibt, wenigstens im Epithel des Duodenum, leicht sein Eisen an Ammoniumsulfid ab, aber der im Darminhalt verbleibende Teil tut es nicht. Es ist offenbar, dass das Protoplasma der Epithelzellen eine Veränderung in den Molekeln der maskierten Verbindung bewirkt, indem es das Eisen angreifbarer macht. Diese Veränderung muss nicht notwendigerweise darin bestehen, dass das Eisen temporär oder endgültig in die anorganische Form gebracht wird, denn, wie schon betont, Ammoniumsulfid, welches Abderhalden gebrauchte, um das Eisen im Darmepithel zu lokalisieren, ist ein sehr mächtiges Reagens für manche maskierte Eisenverbindungen und selbst für das Hämatogen des frischen, von letzterem nicht isolierten Eidotters. Die Veränderung im Darmepithel kann derart sein, dass es noch den maskierten Charakter der Verbindungen, obgleich sich ihre Fähigkeit auf Ammoniumsulfid zu reagieren steigert, beibehält.

Es muss daran erinnert werden, dass Vitellin, das Hämatogen von Bunge, ein Paranukleoprotein ist und dass davon nicht nur das Hämoglobin im Blute des Hühnchens stammt, sondern auch die wahren eisenhaltigen Nukleoproteine der Zellen des Embryo. Dies schliesst eine doppelte Verwandlung in sich und eine, bei welcher das Umändern von Teilen des Moleküls, um wahre Nukleoproteine zu bilden und aus letzteren Hämoglobin; ein ebenso deutliches Beispiel der Synthese wie nur irgendwie im Pflanzenreich gefunden werden kann, darstellt.

Dies mit der Tatsache zusammengenommen, dass die Behandlung der Bleichsucht und einfachen Anämie mit Eisensalzen nicht nur eine Vermehrung der roten Blutkörperchen sondern auch des Hämoglobins im Blut hervorbringt, macht es klar, dass wir nicht in der Lage sind die Möglichkeit auszuschliessen, dass anorganische Eisenverbindungen, wenn sie in den Geweben resorbiert werden, organische oder maskierte Verbindungen bilden werden. Fehlerhaft in der landläufigen Auffassung dieses Punktes in der klinischen Medizin war die Ansicht, dass das resorbierte Eisen direkt Hämoglobin bildet. Macallum (44) hat gefunden, dass letzteres bei Amphibien aus dem Chromatin der Kerne des Hämatoblasts entsteht und es ist das Chromatin des reifenden Eies, welches das Hämatogen der Dotterkügelchen erzeugt, das bei der Entwickelung der Larve wieder zu Chromatin der Zellen des Körpers und im Hämatoblast, nachdem es durch den Chromatinzustand hindurchgegangen ist, in Hämoglobin verwandelt wird. Es ist klar, dass die Veränderungen, welchen die maskierten Eisenverbindungen unterliegen, wenn sie resorbiert sind, einen sehr komplizierten Charakter haben und dies offenbart eine bemerkenswerte synthesierende Kraft von seiten der tierischen Zelle. Folglich dürfte die Fähigkeit des lebenden tierischen Organismus maskierte Eisenverbindungen aus einfacherem Material, die anorganischen Eisenver-

bindungen mit inbegriffen, aufzubauen nicht abgeleugnet werden, ausser bei unwidersprechbaren Tatsachen, die bis jetzt noch fehlen.

Die Frage, ob anorganische Eisenverbindungen, welche als solche in den Geweben bleiben, nur als Mineralbestandteile eine Rolle spielen, muss, ausser bei den reinen Skelettgeweben, negativ beantwortet werden. Das vollkommene Fehlen von anorganischem Eisen in den Geweben vieler Tiere und besonders der Wirbeltiere, wie es sich durch die Resultate der Anwendung von reinen Hämatoxylinlösungen bei solchen sorgfältig in Alkohol gehärteten Geweben gezeigt hat, ist ein Beweis dafür, dass es funktionell nicht notwendig ist und dass, wenn es vorhanden ist, es keine Rolle spielt. Das Freisein der nervösen Elemente von Eisensalzen, ein Freisein, das universell im Tierreich ist, ist auch ein Beweis nach dieser Richtung. Dass solche Verbindungen, welche funktionell keinen Dienst leisten, auch nicht giftig sind, rührt von der Leichtigkeit her, mit welcher das lebende Protoplasma sie unwirksam macht, indem es sie in das Phosphat, Hydrat oder Oxyd, welche unlöslich sind, verwandelt.

2. Der Nachweis von maskiertem oder organischem Eisen in tierischen und pflanzlichen Zellen.

Über das Vorkommen von Eisen in einer maskierten Form, anders als Hämoglobin und Hämatin, in tierischen und pflanzlichen Zellen ist zuerst von Bunge (8) berichtet worden, welcher aus dem Dotter des Hühnereies die Substanz Hämatogen, ein eisenhaltiges Paranukleoprotein isolierte, von welchem er behauptete, dass von ihm das Hämoglobin des Blutes des Huhnes herstammte. Wie schon erwähnt, fand Bunge in dieser Verbindung, dass das Eisen nicht leicht auf Ammoniumsulfid oder auf Salzsäure und Ferrozyankalium reagieren wollte. Er fand, dass Eisenverbindungen ähnlichen Charakters im Pflanzenreich und in tierischen Formen vorkommen, aber dass alle anfänglich in der Pflanzenzelle synthesiert werden.

Später isolierte Zaleski (94) aus der Leber ein eisenhaltiges Nukleoprotein, welches er Hepatin nannte und in welchem das Eisen so zähe festgehalten war, dass selbst nach lange fortgesetzter Behandlung mit Ammoniumsulfid sein Vorhandensein nicht aufgedeckt werden konnte.

Lubavin (41) hat früher gefunden, dass das Nukleoprotein der Milch Eisen enthält, dessen Vorhandensein nur nach Einäscherung der Verbindung gezeigt werden konnte.

Diese Beobachtungen und die Tatsache, dass bei den Amphibien das Hämoglobin aus dem Chromatin in den Chromosomen der Hämatoblasten im mitotischen Zustand entsteht, führte Macallum (44) im Jahre 1890 zu dem Schluss, dass das Chromatin der Histologen immer eine eisenhaltige Substanz ist.

Die Schwierigkeit dies zu beweisen liegt in der bereits ausdrücklich betonten Tatsache, dass das Eisen derart im Molekül der Verbindung gebunden ist, dass es nicht sofort von Ammoniumsulfid oder Salzsäure und Ferrozyankalium angegriffen wird, und dass das erstere Reagens das Eisen aus den im Alkohol gehärteten Gewebselementen nicht freimacht, wenn auch die Anwesenheit des Reagens monatelang bei 60° C fortgesetzt wird. Schnitte von tierischen und pflanzlichen in absolutem Alkohol gehärteten Geweben, welche keine Reaktion auf Eisen mit einer 0,5% starken Hämatoxylinlösung gaben, offenbarten, wenn sie tage- und selbst wochenlang mit Ammoniumsulfidlösung erhitzt worden waren, wobei man die ganze Zeit darauf achten muss, dass kein Verlust durch Verdampfung entsteht, nicht den geringsten Beweis von dem Vorhandensein von Ferrosulfid, und doch, wenn solche oder ähnliche Schnitte auf reinen farblos durchsichtigen Asbestblättern verbrannt wurden oder auf einem Platinblech einige Sekunden in die Bunsenflamme gehalten wurden, konnte eine Eisenreaktion leicht in der Asche bei Anwendung von Ferrozyankalium und Salzsäure erreicht werden. Das zeigte unfehlbar, dass Eisen in solchen Schnitten vorhanden war und dass es nicht vom Hämoglobin oder vom Hämatin stammte, wird aus der Tatsache klar, dass es ebenso in pflanzlichen Geweben wie in Schnitten der Ovarien und anderer Organe der Phanerogamen erhalten wurde.

Die Aufgabe war die, das Eisen in solchen Präparaten „aufzudecken", so dass man seine Verteilung in den zellulären Strukturen zeigen konnte. Das wurde schliesslich von Macallum (42) gemacht, nachdem er erfolglos eine grosse Anzahl von Methoden zu diesem Zwecke versucht hatte. Es zeigte sich, dass wenn einige isolierte Zellen von in Alkohol gehärteten Geweben auf einen Objektträger in eine Mischung mit gleichen Teilen frisch präparierten Ammoniumhydrogensulfids, aus 0,96% starken Ammoniaks gemachtem NH_4HS, und 50%igem Glyzerin gebracht wurden, das Präparat durch ein Deckglas geschützt und während einer Zeit, die zwischen einigen Tagen und einigen Wochen variierte, bei 60° C gehalten wurde, es einen entschiedenen Beweis gab, dass das Eisen aus seinem maskierten Zustand im Chromatin und gewissen anderen Verbindungen befreit worden war. Der Umfang, den der Demaskierungsvorgang annahm, wurde von Tag zu Tag beobachtet und das gebildete Ferrosulfid gab den Strukturen, aus denen es frei gemacht worden war, konzentriert, eine Farbe, welche von dem anfänglich grünlichen Anstrich zum stärksten Dunkelgrün oder Grünschwarz fortschritt. Die in Frage kommenden Strukturen waren immer entweder ganz aus Chromatin, wie z. B. die mitotischen Figuren bei sich teilenden Zellen, oder teilweise aus Chromatin zusammengesetzt.

Wenn es eine zu schnelle Konzentration des Ammoniumsulfids unter dem Deckglas gab, oder wenn zu viele zelluläre Elemente im Präparat vorhanden waren, trat die Reaktion nicht ein. Im ersteren Falle wurde das

Ammoniumsulfid in ein oder zwei Tagen gelb, und wenn dies geschah, war das Vermögen des Reagens Eisen aufzudecken, verschwunden. Es zeigte sich, dass die Polysulfide und selbst die Diammoniumsulfide nicht die Kraft haben das Eisen aus seinem maskierten Zustand zu befreien und infolgedessen sind alte Lösungen des Reagens selbst unter den günstigsten Bedingungen unwirksam.

Wenn zu viele zelluläre Elemente in dem Glyzerinsulfidpräparat erthalten waren, konnte kein Eisen oder im besten Falle nur in einem sehr geringen Masse erhalten werden. Je weniger zelluläre Elemente vorhanden waren, um so bestimmter und deutlicher war die Reaktion, die zuletzt erhalten wurde. Es wurde behauptet, dass die demaskierende Kraft von Ammoniumhydrogensulfid beschränkt ist und dass infolgedessen ein Tropfen unter das Deckglas bei einer grossen Anzahl von zellulären Elementen unwirksam sein würde, während, wenn nur wenige davon vorhanden wären, sie deutlich auf die freimachende Wirkung des Reagens antworten würden.

Das Chromatin von allen Zellarten, tierischen und pflanzlichen, zeigte die Reaktion unter den beschriebenen Bedingungen und dies wies schon an und für sich darauf hin, dass das derartig aufgedeckte Eisen nicht vom Hämoglobin oder Hämatin stammen könnte, das nicht in pflanzlichen Zellen gefunden wird, sondern es wurde ferner gefunden, dass die Kerne der tierischen Gewebe frei von Hämoglobinen und Hämatinen sind, wie denn z. B. das Korneaepithel, die Epidermiszellen der menschlichen Haut und die kristallinischen Knorpelzellen eine Reaktion geben, die ebenso deutlich wie die in anderen Zellen erhaltene ist.

Dass das auf diese Weise allgemein im Kernchromatin gezeigte Eisen nicht von Unreinheiten oder künstlich von aussen herkommen konnte, war aus den Bedingungen ersichtlich, unter welchen die Beobachtungen angestellt wurden. In allen Fällen wurden sorgfältig gereinigte Objektträger und Deckgläser, welche mit kochender Salpetersäure behandelt wurden, benutzt und die Gewebselemente wurden ferner mit Gänsekielspitzen zerzupft. Das benutzte Glyzerin war die reinste Form, frei selbst von Spuren von Eisen.

Gilson (20) fand im folgenden Jahr, dass nicht nur Ammoniumsulfid die Gegenwart von Eisen im Chromatin, wie es Macallum beschreibt, anzeigt, sondern dass auch mit anderen chemischen Reagenzien behandelte Kerne das Vorhandensein von Eisen in ihnen zeigen. Für diesen Zweck waren schwefelsaures und schwefligsaures Anhydrid das beste und wenn Kerne eine gewisse Zeit lang in diese Reagenzien getaucht werden, dann geben ihre chromatischen Elemente sofort bei Behandlung mit Ammoniumsulfid eine grünlichschwarze Farbe, während die Einwirkung einer sauren Lösung von Ferrozyankalium ihnen eine intensive blaue Farbe verleiht, welche durch die Bildung von Berlinerblau verursacht wird.

Diese Beobachtungen führten Gilson dazu, die Frage über das Vor-

kommen von organischem Eisen im Kernmaterial als eine schwierigere, als Macallum sie gefunden hatte, zu betrachten, aber er erhob keinen entschiedenen Widerspruch gegen des letzteren Verallgemeinerungen, obgleich er nicht mit denselben zufrieden war. Dabei war er auch von der Tatsache beeinflusst, dass die Kerne aus Eisensalzlösungen, so verdünnt sie auch sein mögen, Mengen davon absorbieren, und er nahm an, dass das von Macallum im Chromatin gefundene Eisen eine zufällige Verbindung sein könnte, die nur nach dem Tode eintritt, ähnlich der, welche mit vielen anderen Substanzen, besonders den Farbstoffen, eintritt.

Da von Kernen absorbierte Eisensalze, nachdem sie gehärtet oder tot sind, immer noch sofort und ohne irgendwelche Schwierigkeit nach Behandlung mit Ammoniumsulfid oder sauren Lösungen von Ferrozyankalium nachweisbar sind, ist es klar, dass Chromatin keine festen organischen oder maskierten Eisenverbindungen nach dem Tode oder der Fixierung bilden kann. Folglich würde die einzige Fehlerquelle daraus entstehen, dass Chromatin eine feste Bindung mit dem absorbierten Eisen eingeht und eine maskierte Verbindung des letzteren bildet, während das Kernmaterial sich im lebenden Zustand oder im Übergang vom lebendigen zum toten Zustand befindet. Dies ist der Kernpunkt von Gilsons Kritik. Es hat keinen Zweck, darauf zu bestehen, dass totes Kernmaterial Eisensalze absorbiert, wie es viele andere Substanzen absorbiert, denn das wird angegeben und kann auch leicht gezeigt werden, dass das auf diese Weise absorbierte Eisen ohne die geringste Schwierigkeit und sogleich nachgewiesen werden kann. Es muss auch betont werden, dass verschiedene Reagenzien und besonders Säuren Eisen aus seinen maskierten Verbindungen befreien. Das erklärt, was Macallum später fand, warum nach Behandlung mit schwefeliger Säure und Schwefelsäureanhydrid der Kernstoff leicht nachweisbares Eisen enthält. Das auf diese Weise frei gewordene Eisen darf nicht mit Eisenverbindungen verwechselt werden, welche vom Kernstoff nach dem Tode absorbiert werden.

Die Frage, ob sterbender Kernstoff Eisen aus Eisensalzen, welche es absorbiert hat, maskieren kann, ist jedoch nur eine theoretische. Die Haupttatsache ist, dass man Gewebe im frischen Zustand erhalten kann, bei welchen nach Behandlung mit den sensitivsten Reagenzien nicht die geringste Spur anorganischen Eisens gefunden werden kann und dass doch nach dem Tode ihre isolierten Kerne, bei anhaltender Behandlung nach Macallums Methode mit Ammoniumsulfid und Glyzerin, einen unfehlbaren Beweis für das Vorhandensein von Eisen geben.

Man muss unbedingt klare Begriffe über diesen Punkt haben, denn Gilsons Zweifel und Kritiken erstrecken sich nicht nur auf Macallums Beobachtungen und Verallgemeinerungen, sondern auch auf den Wert von Beobachtungen, welche in bezug auf das Vorkommen von eisenhaltigen Nukleoproteinen in den Geweben gemacht worden sind. Solche Kritiken

würden an dem Vorkommen von Hämatogen im normalen Dotter des Hühnereies, an dem antemortalen Vorkommen der von Hammarsten und Umber (92) im Pankreas gefundenen eisenhaltigen Nukleoproteine, und an den von Spitzer (85) und anderen in der Milz, Niere, Leber, Thymus, Testikeln und Ovarien und von Suzuki (66), Petit (89) und Stoklasa (87) in den pflanzlichen Geweben gefundenen Nukleoproteinen einen Zweifel aufkommen lassen. Warum sollten eisenhaltige aus den Geweben im postmortalen Zustand erhaltene Nukleoproteine unbestritten bleiben, während das Vorkommen von Nukleoproteinen in den Kernen, wie es durch die mikrochemischen Methoden aufgedeckt worden ist, angezweifelt wird?

Dass ein Zweifel über das Vorkommen, intra vitam, von maskiertem Eisen im Chromatin besteht, rührt vornehmlich von der Tatsache her, dass nach Macallums zweiter Arbeit (46) es keinen zweiten allgemeinen Überblick über den Gegenstand gegeben hat. Selbst das wäre nicht notwendig, um die Schwierigkeit zu heben, denn die Verwendung von Material von tierischen und pflanzlichen Formen, welche im vollkommen frischen und normalen Zustand als eisenfrei befunden werden, liefern einen entschiedenen Beweis über den Gegenstand. Schnitte von frischen Ovarien bei Liliacaen, von den Hoden und dem Pankreas bei Wirbeltieren, den Ovarien bei Säugetieren und des Eierstockes selbst bei Amphibien geben keinerlei Reaktion auf Ammoniumsulfid, selbst nicht nach einer halben Stunde, aber wenn diese Schnitte und Präparate gewaschen werden, um sie vom Reagens zu befreien, und sofort danach zum Härten in Alkohol gelegt werden, dann zeigen die Kerne nachher bei Behandlung mit einer Glyzerin- und frischen Sulfidmischung, dass Eisen vorhanden ist, und in genügender Menge, um unverkennbar zu sein.

Der einzige Punkt, über welchen es notwendig ist, Gewissheit zu haben, ist, ob das durch das Ammoniumsulfid vermittelst der erwähnten Methode freigemachte Eisen da lokalisiert ist, wo es vor der Freimachung existierte. Die Schwierigkeit kann folgendermassen gefasst werden: Wird das Eisen während des Freimachungsprozesses aus dem Zytoplasma in den Kern, oder aus dem Lauthanin (Heidenhain) in den Kern zu dessen Chromatin oder bei den Nervenzellen aus den Kernen in die die Nisslsche Granula im Zytoplasma aufbauende Substanz transportiert? Oder stammt ferner das im Chromatin der Kerne gefundene Eisen aus den Oberflächen des Objektträgers und des Deckglases, durch eine desintegrierende Wirkung des Ammoniumsulfids auf das Glas?

Der besprochene Punkt ist wichtig, denn aus den Resultaten von De Koninck[1]), Stokes[2]) und Konschegg und Malfatti[3]) gemachten

[1]) Bull. Soc. Chim. Belg. Vol. 19. p. 181, 1906; Ref. chem. Zentralbl. 1906. Vol. 1. p. 96.
[2]) Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 29, p. 305, 1907.
[3]) Zeitschr. f. anal. Chem. Jahrg. 45. p. 747, 1906.

Untersuchungen müssen wir annehmen, dass Ferrosulfid unter gewissen Bedingungen löslich ist. Die beiden letztgenannten fanden, dass, wenn basische Eisenverbindungen, wie z. B. die Hydroxyde, oder eine Mischung von den basischen Azetaten und basischen Phosphaten mit Ammoniumsulfid behandelt werden, man keinen Niederschlag von schwarzem Ferrosulfid erhält, sondern eine vollkommene Lösung von tiefgrüner Farbe und eine sehr schwach alkalische Reaktion. Diese Lösung entsteht durch das Kaliumhydrat oder Natriumhydrat, welches in der Mischung vorhanden ist. Wenn man Ferrosulfid von den Ammoniaksalzen rein wäscht und mit Kaliumhydrat oder Natriumhydrat erwärmt, erhält man eine grüne Lösung des Sulfids, aber dies tritt nicht ein, wenn man Ammoniumhydrat anstatt eines der beiden ätzenden Hydrate benutzt. Aus diesen und anderen Tatsachen schlossen Konschegg und Malfattti, dass Ferrosulfid in einem Überschuss von Schwefel schwache Säuren („Sulfoeisensäure") bildet, welche mit Kalium und Natrium aber nicht mit Ammonium lösliche Salze geben. Deshalb ist entweder Kaliumhydrat oder Natriumhydrat ein notwendiger Faktor bei der Erzeugung der Lösung.

Es kann angenommen werden, dass bei der Anwendung von Macallums Methode solche löslichen Sulfide aus dem freigemachten Eisen in den Zellen im Beisein von Natrium und Kaliumhydrat gebildet werden, welche durch die Zersetzung an den Glasoberflächen in Berührung mit dem Glyzerinpräparat erzeugt werden, und dass das auf diese Weise gebildete Eisensalz von der Lösung durch das Kernmaterial absorbiert wird, welches infolgedessen dunkelgrün erscheint. Konschegg und Malfattti fanden, dass solche löslichen Eisensulfide sofort niedergeschlagen werden, wenn eine geringe Menge Ammoniumchlorid der Lösung zugesetzt wird. Der Verf. hat gefunden, dass der Zusatz von vollkommen reinem Ammoniumchlorid zu dem Glyzerinsulfidpräparat nicht die allmähliche Bildung verhindert, wie gewöhnlich bei dem dunkelgrünen Ferrosulfid im Chromatin. Deshalb kann das auf diese Weise entdeckte Eisen nicht in der Lösung gewesen und nach der Zersetzung der ursprünglichen maskierten Verbindung wieder verteilt gewesen sein.

Dies beseitigt auch die Möglichkeit, dass das im Chromatin nach anhaltender Wirkung, bei 60° C, der Glyzerinsulfidmischung gefundene Eisen aus der Zersetzung des Oberflächenstoffes des Objektträgers oder des Deckglases stammen könnte. Der Verf. muss auch betonen, dass, wenn die Präparate auf Quarzplatten (reines Silizium) anstatt auf gewöhnliche Objektträger gebracht und mit Quarzstreifen anstatt mit gewöhnlichen Deckgläsern zugedeckt werden, das in absolut reiner Form benutzte Glyzerinsulfid die dunkelgrüne Reaktion des Ferrosulfids in dem Kernstoff genau so hervorbringt, wie wenn es auf Glas gebracht wird.

Man muss unbedingt so auf diesen Einzelheiten und auf dieser Argumentation bestehen, weil die Frage, ob Eisen in normaler Weise intra vitam in maskierter Verbindung mit Nukleoproteinen vorkommt, endgültig und

bestimmt nur durch die Anwendung von Ammoniumsulfid nach Macallums Methode bestimmt werden kann. Wie schon erwähnt, kann jedes Argument, welches vorgebracht wird, um zu zeigen, dass das im Chromatin durch mikrochemische Methoden aufgefundene Eisen von der Resorption und der darauf folgenden Bindung während oder nach dem Tode der Kerne stammt, auch zugunsten der Ansicht, dass die aus verschiedenen Organen in Mengen isolierten eisenhaltigen Nukleoproteine postmortale Produkte seien, wenigstens soweit es ihren Eisengehalt betrifft, erhoben werden. Es ist möglich, dies durch einige besondere Beispiele zu widerlegen. Man kann durch eine sorgfältige Manipulation die grossen Kerne in dem jungen Eierstockei bei Amphibien (Amblystonia und Necturus) isolieren und sie, nachdem man bestimmt die Abwesenheit von irgend einer sofort mit Ammoniumsulfid auffindbaren Eisenverbindung nachgewiesen hat, auf einer reinen Platinplatte in einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure erhitzen, bis die Flüssigkeit verdampft ist. Wenn man dem Rest etwas saure Ferrozyanidlösung zusetzt, dann entwickelt sich Berlinerblau, wodurch gezeigt wird, dass der Rest Eisen enthält. Man kann auch, wie der Autor es gemacht hat, durch sorgfältige Manipulationen den grossen, einzigen Chromatinstreifen des Chromatins von dem Kern einer Speichelzelle der Chironomuslarve isolieren, ihn auf die beschriebene Weise mit einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure behandeln, wodurch man imstande gesetzt wird, zu finden, dass der Rest eine deutliche Eisenreaktion gibt. Aber dieser und einige ähnliche Nachweise genügen nicht, um uns in bezug auf das Vorhandensein von maskiertem Eisen überall im Kernstoff eine Verallgemeinerung zu gestatten und die einzigen Tatsachen, welche in jeder Beziehung unangreifbar sind, sind jene, welche bei dem Gebrauch von Ammoniumsulfid an isolierten individuellen zellulären Elementen gewonnen werden.

Tatsächlich zeigte es sich, dass andere Reagentien, wie z. B. Schwefelsäure, Salpetersäure und Salzsäure in verdünnter Lösung Eisen aus seinem maskierten Zustand in allen Verbindungen, ausser Hämoglobin (Macallum [46]) frei machen und dass, wenn man in Alkohol aufgelöste Schwefelsäure (100 Teile Volumen absoluter Alkohol, 1,84 Sp. Gr., 4 Teile Schwefelsäure) auf in Alkohol gehärtete Gewebsschnitte einen oder zwei Tage bei 35—50° C) wirken lässt, dann der Kern und andere Chromatine und gewisse andere maskierte Eisenverbindungen das Vorhandensein von Eisen sofort nach Anwendung der passenden Reagenzien anzeigen. Dies ist eine Methode, die leicht und allgemein angewendet werden kann. Sie ist für den Histologen sehr nützlich, der damit in gewöhnlichen Fällen die Verteilung des maskierten Eisens seiner Präparate bestimmen kann. Aber sie hat gewisse Mängel. Der Gebrauch des absoluten Alkohols, sowie der Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure geschieht zu dem Zweck, Wasser aus dem Reagens auszuschliessen und dadurch die Tendenz der Diffusion des Eisensulfats, welches gebildet

wird, zu vermindern. Diese Tendenz wird nicht vollständig vernichtet und infolgedessen ist schwefelsaurer Alkohol kein unfehlbares Reagens, um das freigemachte Eisen zu lokalisieren.

Viel weniger wirksam sind Salpeter und Salzsäure, wenn sie mit Alkohol verwandt werden. Salpetersaurer Alkohol (100 Teile reiner Alkohol, 1,4 Sp. Gr., 3 Teile Salpetersäure) ist ein mächtiges Reagens, um das Eisen im Kernchromatin frei zu machen, aber er extrahiert es, wenn es ganz frei gemacht worden ist, fast eben so schnell und als Resultat hiervon können die Schnitte, der (in Alkohol gehärteten) tierischen und pflanzlichen Organe nach mehrtägiger Behandlung mit dem warmen Reagens keinerlei Kerneisen enthalten.

Salzsaurer Alkohol und besonders das Reagens, welches als Bungesche Flüssigkeit bekannt ist (95% Alkohol 90 Volumen; 25% Salzsäure 10 Volumen), befreit und extrahiert auch das Eisen aus den Kernen der Gewebsschnitte fast ebenso leicht wie das Salpeterreagens. Wenn beide jedoch auf das Gewebe als eine grosse Masse wirken, dann greifen sie nur die oberflächlichen Teile an und infolgedessen kann die Reaktion des frei gewordenen Eisens sehr verzögert werden. Deshalb ist die Bungesche Flüssigkeit nicht anwendbar, um das organische Eisen aus dem Eidotter oder Hämatogen in Masse oder irgend einem anderen Stoff zu entfernen, in welchen sowohl maskierte als organische Eisenverbindungen vorhanden sind [1]).

Während daher Reagenzien wie schwefelsaurer Alkohol gewöhnlich benutzt werden können, um Eisen aus Kern und anderen Chromatinverbindungen frei zu machen, kann nur mit Ammoniumsulfid, nach Macallums Methode angewandt, die letzte entscheidende Prüfung über die Verteilung solcher maskierten Verbindungen vorgenommen werden. Es ist folglich ein wertvolles Reagens und sein Wert wird, wenigstens soweit es die tierischen Gewebe angeht, durch die Tatsache erhöht, dass es Hämaglobin nicht angreift. Dies macht es unmöglich, das Eisen von letzterem mit dem anderer mas-

[1]) Es ist merkwürdig, dass nach Carazzi (13) nur Bunges Flüssigkeit und diese allein von Macallum benutzt wurde um das Eisen in den Kernen von seinen maskierten Verbindungen zu befreien, und darauf beruhen die Kritiken, welche den Wert von Macallums Resultaten und Schlüssen bezweifeln. Carazzi stellt auch fest, dass die Bungesche Flüssigkeit das Eisen nicht aus den Verbindungen befreit. Es ist unmöglich, den Carazzischen Resultaten Bedeutung beizulegen, weil seine Methoden, Eisen in Geweben nachzuweisen, sehr fehlerhaft waren. So wurden die Gewebsschnitte zur Untersuchung auf anorganisches Eisen auf das Deckglas vermittelst des Paraffinwasserprozesses befestigt und nach der Entfernung des Paraffins zuerst mit einer 1,5%igen Ferrozyankaliumlösung einige Minuten lang behandelt, dann die Lösung mit Löschpapier entfernt, wonach das Präparat mit einer 1%igen Salzsäurelösung gewaschen, dann mit Wasser abgespült und schliesslich der Luft ausgesetzt wird, damit sich die Berlinerblau-Reaktion entwickeln kann! Carazzi wundert sich, warum sich die Reaktion manchmal entwickelt und manchmal nicht, und ihm schien ein Grund der zu sein, dass die Ferrozyanidlösung entweder zu frisch oder zu alt angewendet wurde! Sicherlich kann die Mikrochemie durch derartige Methoden keine Fortschritte machen.

kierter Verbindungen zu verwechseln und man kann von nun an das Vorkommen von Hämoglobin in den Präparaten vernachlässigen. Hämatin gibt tatsächlich sein Eisen an Ammoniumsulfid ab, aber diese Verbindung ist gewöhnlich nicht in den Geweben vorhanden und nur in unendlich kleinen Mengen, Mengen die so ausserordentlich gering sind, dass sie das Vorhandensein in der Verbindung bezweifeln lassen. Es ist jedoch leicht genug, sich gegen ihr Vorkommen vorzusehen. Wenn man Schnitte eine halbe Stunde lang bei 60° C mit absolutem Alkohol von 100 Volumen, welchem 10 Volumen einer Ammoniaklösung von 0,88 Sp. Gr. zugesetzt ist, behandelt, werden alle Hämatinspuren entfernt und man kann dann die Glyzerinsulfidmethode anwenden, um das Chromatineisen zu lokalisieren.

Es ist möglich, dass andere Freimachungs- und zugleich genaue Lokalisationsmethoden des Eisens aus maskierten Verbindungen in Zellen eventuell entdeckt werden können, aber bis das geschehen ist und bis der Wert solcher Methoden über jeden Zweifel erhaben festgestellt ist, müssen alle Beobachtungen in bezug auf die Verteilung des Chromatins und verwandter Verbindungen, welche maskiertes Eisen enthalten, endgültig auf die Resultate einer vernünftigen und sorgfältigen Anwendung der Glyzerinsulfidmethode basiert werden.

Diese Methode ist in sehr ausgedehnter Weise auf alle Zellarten des Tier- und Pflanzenreiches angewendet worden (Macallum [46] 1895). Die Resultate dieser Untersuchungen zeigten, dass die Substanz, welche dem Zytologen und Histologen als Chromatin bekannt ist, eine maskierte Eisenverbindung ist, in welcher Eisen reichlich genug vorhanden ist, um, wenn es völlig frei gemacht worden ist, eine dunkelgrüne Reaktion so tief in der Färbung zu geben, wie in ihrer Art die vom frischen Chromatin in situ durch Carnoys essigsaures Methylgrün gegebene Farbe. Die Eisenreaktion beschränkt sich so scharf auf das Chromatin, dass die mitotischen Chromosome in den sich teilenden Zellen so deutlich abgegrenzt sind, als ob sie mit essigsaurem Methylgrün oder irgend einem anderen färbenden Reagens, welches nur Chromatin auswählt, gefärbt wären. Und wo in den Chromosomen das Chromatin in Streifen oder Tröpfchen mit einer nichtchromatinischen Substanz abwechselnd (Linin) vorkommt, wie sie z. B. häufig in den Liliaceen (Erythyonium, Lilium) und in den grossen Testikelzellen des Oniscus, aber besonders vor allem in dem Kern der Speichelzellen der Larve des Chironomus gefunden werden, findet sich die erhaltene Eisenreaktion nur in dem Chromatin, und nicht in dem Linin genannten Stoff, vor. Wo andererseits die Kerne arm an Chromatin sind, ist die erhaltene Reaktion eine schwache.

In den tierischen Zellen der höheren Tierarten geben die Nukleolen gewöhnlich eine mehr oder weniger deutliche Eisenreaktion. Da diese Struk-

turen nicht so färben, als ob sie ganz aus Chromatin zusammengesetzt wären, oder als ob sie viel in der Kernmasse aufgelöstes Chromatin enthielten, ist es klar, dass man nicht erwarten darf, dass sie eine so tiefe Eisenreaktion wie reines Chromatin geben. Nicht selten war der Hauptteil des Kernes vollkommen eisenfrei, während der äussere Teil, welcher auf den anderen wie eine Hülle wirkt, eine sehr deutliche Eisenreaktion gab. Es zeigte sich, dass diese Nukleolen immer an das chromatische Netzwerk befestigt waren und manchmal entstand um sie herum eine Membran, welche von dem Netzwerk stammte und mit ihm zusammenhing. Solche Nukleolen kommen in den Kernen der Drüsenzellen vor, wie z. B. in den Leber-, Nieren- und Darmepithelzellen der Amphibien, und sie sind selten in den Kernen der Muskelfasern oder des Hautepithels und niemals in denjenigen der Leukozyten oder Lymphzellen oder der roten Blutkörperchen (Necturus) zu sehen. Ein anderes Kernelement, welches auch in den Kernen der Leberzellen im Necturus gefunden wird, gab keinerlei Eisenreaktion, obgleich es Eosin sehr deutlich absorbierte.

In dem sich entwickelnden Eierstockei der Amphibien gibt es eine Phase, wo alles Chromatin in Gestalt eines dünnen Netzwerkes ist, in deren Trabekeln grosse Granula mit seitlichen Verlängerungen gefunden werden und wo es keine Nukleolen gibt. In einer späteren Phase wird das Netzwerk feiner und das aufbauende Chromatin geringer, aber die um die Peripherie des Kernes und an die Membran angrenzenden Nukleolen geben eine deutliche Eisenreaktion und färben sich wie Chromatin. Es besteht eine umgekehrte Beziehung zwischen der Grösse dieser Nukleolen und der Chromatinmenge in dem Netzwerk und es scheint, als ob der Kernstoff hier von dem Chromatin des Netzwerkes stammt. Diese Nukleolen bilden die Quelle der maskierten Eisenverbindung, welche in die Zusammensetzung der Dotterkügelchen eintritt.

Bei den Pflanzenzellen gibt es drei Arten von Nukleolen, eine, bei welcher die erhaltene Eisenreaktion viel schwächer war, als in der entsprechenden reinen Chromatinmasse, eine andere in dem Kern gefundene, und aus Reservemassen des im Kern abgelagerten Chromatins gebildete, welche bei der Bildung von Chromatin beteiligt ist, welche eventuell in die Zellen des Endosperms übertragen wird; die dritte Varietät kommt im Kern des Embryosacks der Liliacaeen (Erythonium) (aber nicht in den mitotischen Fasern) vor, als kugelförmige Elemente, welche einen oder mehrere strahlenbrechende Körper in sich schliessen und welche eine geringe Menge maskierten Eisens enthalten, welches jedoch, wenn die Fasern dünner und weniger reich an Chromatin werden, reichlicher wird. Sie enthalten eventuell fast alles Chromatin des Kernes.

Diese Pflanzennukleolen, im Gegensatz zu den Nukleolen der erwähnten tierischen Zellen, färben sich ebenso leicht tief mit Safran in Lösungen wie

die Chromatinelemente in demselben Kern und sie behalten die Farbe ebenso hartnäckig, wenn sie mit Alkohol gewaschen werden. Die Nukleolen der tierischen Zellen sind nicht in den pflanzlichen Zellen vertreten.

Bei Corallorhiza multiflora und bei Spirogyra wird der grössere Teil des maskierten Eisens in einem grossen Kugelelement gesammelt, welches nicht mit dem Chromatinnetzwerk in Zusammenhang steht, welches selbst eine ausgesprochene Eisenreaktion gibt.

Das Vorkommen von extranuklearem oder zytoplasmatischem maskiertem Eisen, wobei von Hämoglobin und Hämatin abgesehen wird, ist ein aussergewöhnlicher Anblick in den Zellen der höheren Formen des Tierlebens, aber in den niedrigeren Arten wie z. B. bei den Protozoen, ist die Gegenwart von solchen Verbindungen im Zytoplasma nicht ungewöhnlich und in manchen Fällen schienen sie mit der funktionellen Tätigkeit verknüpft zu sein. Sie wird selten in den Zellen der höheren pflanzlichen Organismen beobachtet und die Ausnahmen davon sind die Kernzellen (Erythronium) und die Zellen der Klebestoffschicht beim Weizenkorn. In den Blumenstaubkörnern der Cucurbita entsteht, wenn sie sich entwickeln, eine Diffusion des maskierten Eisens aus einem der zwei vorhandenen Kerne in das Zytoplasma und diese Diffusion geht weiter, bis schliesslich verhältnismässig wenig Chromatin in dem geschrumpften Kern übrig geblieben ist.

Die ausnahmsweisen Beispiele von dem Vorkommen der maskierten Eisenverbindungen im Zytoplasma der höheren Formen im tierischen Leben, welche zu dem dotterhaltigen Ei hinzukommen, sind die Zellen der dotterhaltigen Embryonen, die Hämatoblasten der Wirbeltiere, die fermentbildenden Drüsen aller Arten und die sich entwickelnden Muskelfasern und Nervenzellen der Wirbeltiere.

In den Dotterkügelchen der niedrigeren Wirbeltiere wird das in ihnen enthaltene maskierte Eisen ganz über den homogenen Stoff verbreitet, welcher die Kügelchen zusammensetzt. Bei dem Hühnerei enthalten sowohl die „weissen" wie die „gelben" Kügelchen maskiertes Eisen, aber im „weissen" lokalisiert, bildet es homogene, kugelförmige Körper, welche charakteristisch für sie sind, während in der „gelben" Varietät das maskierte Eisen entweder in grossen runden Granula oder in Granula von punktförmiger Beschaffenheit vorkommt. Einige der „gelben" Kugelbläschen, anscheinend die, welche Fett intra vitam enthalten, sind von einer Hülle umgeben und eingeschlossen, welche eine Reaktion auf maskiertes Eisen gibt.

Die maskierten Eisenverbindungen der Granula in den Kügelchen sind zweifellos die Hämatogenquellen, welche Bunge isolierte und die Quellen der Kerne, welche Miescher (54a) im Dotter fand

In den Hämatoblasten im Zustand der Larvenentwickelung der Amphibien (Amblystoma), in welchen vollkommen entwickelte rote Zellen zuerst in grossen Mengen gebildet werden, wird das Hämoglobin aus dem überreich-

lichen Chromatin von einer chromatinähnlichen Substanz, welche aus den Chromosomen in das Zytoplasma diffundiert, gebildet. Es zeigt sich, dass diese Substanz eisenhaltig und von der maskierten Varietät ist, welche von dem Glyzerinsulfidreagens angegriffen wird, indem es das Eisen langsam freimacht, welches sich als dunkelgrünes Sulfid, das gleichmässig im Zytoplasma verbreitet ist, zeigt. In einer späteren Phase wird diese Substanz nicht gefunden und ihr Platz wird vom Hämoglobin eingenommen, dessen Eisen, wie schon wiederholt festgestellt wurde, nicht von dem Reagens angegriffen wird. Wenn jedoch die Substanz abnimmt, scheint das Hämoglobin zuzunehmen und man folgert daraus, dass das Hämoglobin aus der diffus verteilten Eisenverbindung hervorgeht. Daher stammt Hämoglobin in letzter Linie aus Kernchromatin.

In den sich entwickelnden Muskelfasern der Amphibien (Amblystoma) geht die in den Dotterkügelchen enthaltene maskierte Eisenverbindung in dem Myoblast durch eine Phase des Kernchromatins hindurch, ehe sie in das Myohämoglobin verwandelt wird. Die vorausgehende Verbindung des letzteren wird in den trüben Streifen, wenn diese gebildet werden, lokalisiert und sie ist zuerst imstande, ihr Eisen bei der Behandlung mit der Glyzerinsulfidmethode abzugeben, aber sie macht später allmählich dem Hämoglobin Platz, welches in den fleischigen Elementen der vollentwickelten Fasern gefunden wird.

Im Pankreas, in den Magendrüsen und in den sekretorischen Zellen der Speicheldrüsen ist eine zytoplasmatische maskierte Eisenverbindung mit Erzeugung der Zymogene, den Muttersubstanzen der Fermente, verbunden. In dem Pankreas und peptischen Zellen enthält das Material in der äusseren oder protoplasmatischen Zelle, welche sich, wie das Kernchromatin, mit bestimmten Farben färbt, maskiertes Eisen und die vorhandene Menge hängt von der Tätigkeitsphase der Zelle ab. Wenn die Zelle sich in der „ruhenden" Periode befindet, d. h. wenn sie Überfluss an Zymogen in der Form der Granula hat, ist die Menge des zellplasmatischen maskierten Eisens gering. Wenn andererseits die Zelle im „ermüdeten" Zustand ist und folglich wenige Granula enthält, dann ist das zellplasmatische maskierte Eisen in seinem Maximum. Die Mengen dieser beiden Substanzen, der zellplasmatischen Eisenverbindung und des Zymogens stehen daher im umgekehrten Verhältnis zueinander. Tatsächlich haben die Resultate der Untersuchungen verschiedener Forscher gezeigt, dass das Zymogen auf Kosten des Protoplasma der äusseren Zone gebildet wird, d. h. dass das Zymogen aus einem Bestandteil des Protoplasma in der Nähe des Kernes ausgearbeitet wird.

Dieser Bestandteil ist, wie Macallum (42) gezeigt hat, die eisenhaltige Verbindung, welche er Prozymogen genannt hat. Dieses Prozymogen muss, nicht nur wegen des darin enthaltenen maskierten Eisens und seiner Fähigkeit, sich mit Farbe zu färben, sondern auch wegen seines Ursprunges

durch Diffusion aus dem Kern als extranukleares, jedoch wahres Chromatin angesehen werden. Diese Beobachtungen über den Ursprung des Prozymogen sind, soweit sie sich auf die peptischen Zellen beziehen, von Bensley (8), Carlier (14) u. a. bestätigt worden.

In den Speichelzellen (Parotis) gibt es ein ähnliches eisenhaltiges Prozymogen, obgleich es sich nicht so sehr an Menge während der Phasen in der sekretorischen Geschichte der Zelle, wie im Falle der Pankreas- und peptischen Zellen, zu verändern scheint.

Bei den Muzin absondernden Zellen (submaxillare Drüse der Katze und des Hundes) enthält nur eine schmale Zone des Zytoplasma um den geschrumpften Kern herum maskiertes Eisen, aber in den grossen Halbmonden von Gianuzzi gibt das ganze Zytoplasma bei der Katze eine Reaktion auf maskiertes Eisen.

In der „äusseren" Zone jeder Zelle der Lieberkühnschen Drüsen ist auch eine maskierte Eisenverbindung vorhanden. Da diese [illegible] Muzin noch mit den anderen Produkten ihrer Tätigkeit absondern, [illegible] kann die maskierte Eisenverbindung, welche chromatischer Natur ist, hier auch ein wesentlicher Faktor ihrer Sekretion sein, während die Zymogengranula aus einem Stoff bestehen, welcher Phosphor in einer maskierten Form enthält, welche dazu verhilft, dessen Ursprung aus einer Nukleoproteinverbindung abzuleiten, wie Chromatin, während Muzigen und Muzin keine maskierten Phosphorverbindungen enthalten und daher ist die von der maskierten Eisenverbindung im Zytoplasma der Lieberkühnschen Zellen gespielte Rolle unbekannt. Sie scheint nicht mit der Ausarbeitung des Muzins verknüpft zu sein, denn in den Schleimdrüsen der Haut der Amphibien gibt es keine zellplasmatische maskierte Eisenverbindung. Eine merkwürdige Tatsache ist die, dass, während das Zytoplasma der Hauptzellen in den peptischen Drüsen der Säugetiere eine maskierte Eisenverbindung in Form von Prozymogen enthält, das Zytoplasma der Wandzellen derselben Drüsen absolut frei von irgend welchem maskierten Eisen ist.

Die einzigen anderen sekretorischen Zellen bei Wirbeltieren, welche in ihrem Zytoplasma kein maskiertes Eisen enthalten, sind die der Nierenröhrchen. (Amphibien und Wirbeltiere im allgemeinen). In dem Darmepithel werden gelegentlich Zellen gefunden, in welche Fragmente von karyolisierten Kernen anderer Zellen invaginiert worden sind. Diese Fragmente sind eisenhaltig. Es kann hier auch bemerkt werden, dass Barker (4) vermittelst der Glyzerinsulfidmethode beobachtet hat, dass die eosinophilen Granula bei dieser Klasse von Leukozyten eine Reaktion auf Eisen geben. Vermittelst der Glyzerinsulfidmethode hat auch Mackenzie (49) gefunden, dass die oxyphilen Granula in den eosinophilen Zellen des Knochenmarkes bei der Katze und dem Frosch maskiertes Eisen enthalten.

In den Kernen der Nervenzellen bei Säugetieren gibt es sehr wenig

maskiertes Eisen und es befindet sich hauptsächlich in der Hülle des Nucleolus. Scott (83) fand, dass in der Nervenzelle des Embryo das Chromatin, d. h. das eisenhaltige Nukleoprotein reichlich vorhanden ist, aber wenn die Entwickelung dieser Zellen fortschreitet, verbreitet es sich von dem Kern aus, um das Material für die Nisslschen Granula zu bilden, welche er als aus maskierter Eisenverbindung zusammengesetzt gefunden hat. Bei den Anuren Amphibien ist dasselbe der Fall, der Stoff der Nisslschen Granula stammt aus dem Kernchromatin, aber bei den Kaudaten Amphibien gibt es nur wenige oder keine Nisslschen Granula und die Kerne der Nervenzellen sind reich an Chromatin. Mit anderen Worten haben die Nervenzellen der kaudaten Amphibien den Larventypus.

Das Zytoplasma bei vielen Protozoen zeigt bei Anwendung der Glyzerinsulfidmethode eine deutliche Reaktion auf Eisen (Macallum [46]). Bei Stentor, Epistylis, Vorticella und Paramoecium ist das maskierte Eisen gleichförmig durch den Körper verteilt, aber natürlich viel weniger reichlich als im Kern. Es wird angenommen, dass dieses maskierte Eisen etwas mit der intrazellulären Verdauung zu tun hat, wobei es vielleicht die Rolle eines Prozymogens mit nicht spezialisierten Eigenschaften spielt. Bei Euglena gibt auch das Zytoplasma zwischen den Körperchen des „Amylaceous"-Material eine tiefe Reaktion auf maskiertes Eisen, welche besonders deutlich bei den Knotenpunkten des Netzwerkes, welches die Körperchen umschliesst, ist.

Das Zytoplasma der Myzele und Haustorien bei Pilzen enthalten maskiertes Eisen (Cystopus, Hyphelia). Bei Saccharomyces ist das gefundene Eisen sowohl im Zytoplasma wie in kleinen Mengen darin verteilt, und manchmal kann die Hülle der vorhandenen Vakuole dasselbe enthalten. Die Strukturen, welche manche Forscher als Kerne in diesen Formen ansehen, geben eine tiefe Eisenreaktion.

Bei Bakterien geben das Zytoplasma und seine Granula eine schwache Eisenreaktion (B. Megatherum, B. subtilis) nach Behandlung mit schwefelsaurem Alkohol, aber keine mit der Glyzerinsulfidmethode. Bei Beggiatoa alba gab jedoch das Zytoplasma bei Behandlung mit jenem Reagens eine diffuse Reaktion, welche auch in den Granula gefunden wurde, welche in jeder Zelle vorkommen.

Bei den Cyanophycäen kommt die Eisenverbindung im „Zentralkörper" von Zacharias vor, welcher diesem Autor zufolge hauptsächlich aus einer Nukleinverbindung besteht und auch in den „roten" Granula von Bütschli, welche ebenfalls aus einer Art von Chromatin zusammengesetzt sind.

In einer späteren Veröffentlichung gab Macallum (48) die Resultate von ausgedehnteren Untersuchungen über die nichtkernhaltigen Organismen (Cyanophycäen, Beggiatoen und Saccharomycäen). Er fand vermittelst mikrochemischer Methoden, wobei die für maskiertes Eisen mit in-

begriffen sind, dass kein Kern in diesen Arten vorhanden ist und dass, wo gelegentlich, wie bei Saccharomycäen, eine Struktur ähnlich der eines Kernes vorhanden ist, sie tatsächlich von einer Reservemasse einer maskierten Eisenverbindung herrührt, welche mehr oder weniger der Vakuolation unterworfen war. Der kleine runde, häufig in diesen Formen gefundene Körper ist kein Kern, obgleich er aus Chromatin zusammengesetzt ist. In den „Cocci"-, „Comma-" und „Spirillum-" sowie in den „Leptothrix"-Formen der Beggiatoa zeigt es sich, dass die Eisenreaktion gleichmässig mit der Verteilung des Zytoplasma ist, während die Granula eine etwas tiefere Reaktion für dieses Element geben.

Die Verteilung des maskierten Eisens in den Geschlechtszellen bleibt noch zu besprechen. In dem Ei der Ascaris mystax zeigt das Zytoplasma eine schwache Reaktion auf diese Verbindung und eine deutliche in dem Kernchromatin, in welcher Phase es auch immer gefunden werden mag. Das Chromatin der „Polarkügelchen" enthält auch maskiertes Eisen, deren letztes Schicksal unbestimmt ist.

Bei den Spermatozoen derselben Art zeigt sich die Reaktion für maskiertes Eisen vollständig nach zweitägiger Behandlung mit der Glyzerinsulfidmethode, aber unter gewöhnlichen Bedingungen ist sie auf den dichten homogenen Körper, Kern genannt, beschränkt, obgleich die transversal gestreifte Decke oder „Membran" des Schwanzes gelegentlich eine deutliche Eisenreaktion, aber nur in den Stäbchen dieser Streifung geben kann. Wenn das Spermatozoid anfängt, in das Ei einzudringen, zeigt diese „Membran" häufiger die Eisenreaktion, aber es gibt keine weitere Veränderung, bis es das Innere erreicht. Hierbei wird der Kern teilweise aufgelöst und das auf diese Weise frei gemachte Chromatin diffundiert, wie es sich durch die Eisenreaktion zeigt, in das Zytoplasma und in die „Membran", von wo aus etwas in das Zytoplasma des der „Membran" angrenzenden Eies übergeht. Wenn die Umwandlung fortschreitet, löst sich auch die „Membran" auf, wobei es scheint, dass das darin enthaltene Eisen in das Zytoplasma zurückkehrt, während das, welches in das Zytoplasma des Eies diffundiert, zurückgehalten wird.

Diese Beobachtungen, soweit sie die Geschichte von der Verteilung des maskierten Eisens in den Spermatozoen betreffen, entsprechen den Beobachtungen von van Beneden und O. Zacharias über die Geschichte der Verteilung des Chromatins vor, während und nach Penetration des Eies. Ersterer fand kein Färbungsvermögen im Zytoplasma der freien Formen, während die chromophile Fähigkeit des Zytoplasma nach der Penetration stark zunimmt und er schliesst daraus, dass ein Teil des Chromatins des Kernes in das Zytoplasma diffundiert. Dieselbe Veränderung im Zytoplasma wurde von O. Zacharias beobachtet und Kultschitzky nimmt in bezug auf die Veränderungen des Färbevermögens an, dass nicht alles Chromatin des

„Kernes" der Spermatozoen zu dem Aufbau des männlichen Prokernes gebraucht wird.

In den sich entwickelnden männlichen Geschlechtszellen der höheren Wirbeltiere (Ratte, Meerschweinchen) gibt das Chromatin eine reiche Eisenreaktion [1]), aber im völlig entwickelten Spermatozoid ist der Kopf weniger reich an maskierter Eisenverbindung, während er der frei machenden Wirkung des Glyzerinsulfidreagens grösseren Widerstand zu bieten scheint. Die Reaktion ist gleichmässig im Kopf verteilt, kann aber nicht im Schwanz oder im „Mittelstück" erzielt werden.

Es ist bemerkenswert, dass Miescher (57) in seinen klassischen Untersuchungen über die Zusammensetzung der Lachsmilch aus seinen Beobachtungen schloss, dass im Kopf eine Substanz von grosser Bedeutung, welche er Karyogen nannte, vorkommt, welche maskiertes Eisen enthält, aber kein Nukleoprotein ist, da sie kein Phosphor enthält, noch ein Protein (obgleich sie mit den Proteinen verwandt ist), da sie keinen Schwefel enthält, jedoch reich an Stickstoff (mehr als 30%) ist; deshalb nahm er an, dass sie den Purinen nahesteht. Diese Substanz befindet sich im Zentrum des Kopfes und ist von einer nukleinsauren Protamin-Verbindung umgeben. Er betrachtete sie vor allem als von einer ganz überwiegenden Lebenswichtigkeit und den Namen, welchen er ihr gab, ebenso wie seine Berichte in seinen Briefen (Briefe 74, 76 und 77) darüber und über Macallums Resultate beim Nachweis des Eisens im Kernmaterial lässt entschieden vermuten, dass er sie als in allen Kernen vorhanden betrachtete und dass sie als eine Substanz von hervorragender biologischer Bedeutung mit den Proteinen und Nukleinen auf einer Stufe steht.

Was dieses Karyogen, welches Miescher (56) gefunden hat, ausser dem bereits Gesagten ist, wissen wir nicht. Ferner war es Schmiedeberg nicht möglich, beim Zusammenstellen der Analysenwerte der Köpfe der Spermatozoen aus Mieschers Schriften in den Werten für das Gesamtgewicht aller Bestandteile wie sie Miescher ermittelt, einen Platz für Karyogen zu finden. Schmiedeberg sagt allerdings, dass, wenn es in den Köpfen vorhanden ist, es nur in sehr geringer Menge sein kann.

Nichtsdestoweniger zeigt das Vorkommen von Eisen in den fettfreien Köpfen bis zu 0,12% und Mieschers Angabe, dass „das Eisen so fest gebunden und in die organische Atomgruppe verankert ist, dass man nicht einmal durch Behandeln mit heisser starker Salpetersäure in kurzer Zeit Eisenreaktionen erhält" und dass Mieschers Karyogen, wenn nicht ein Teil des Nukleoproteins selbst und aus demselben durch Zersetzung infolge der Arbeitsmethoden erzeugt, wenigstens demselben in den Köpfen verbunden war. Es ist ausserordentlich wahrscheinlich, dass die Verbindung wirklich eine

[1]) Noch unveröffentlichte Untersuchungen des Verf.

Atomgruppe ist, welche in allem maskierten Kerneisen vorhanden ist, aber nur in den Köpfen frei erhalten wird.

Die Gegenwart des maskierten Eisens im Chromatin aller Zellarten, wie sie durch die Glyzerinsulfidmethode gezeigt wird, spricht nicht nur für Mieschers Karyogen, sondern bestätigt endgültig auch das natürliche Vorkommen intra vitam solcher eisenhaltiger Nukleoproteine, soweit wie sie isoliert worden sind. Solche Verbindungen sind in der Leber von Zaleski (94), Halliburton (26) und Beccari (5) gefunden worden, von denen letzterer gezeigt hat, dass das „natürliche" Ferratin von Marfori (52) und Schmiedeberg (74) ein wahres eisenhaltiges Nukleinprotein ist, von Halliburton in der Niere, von Hammarsten (27) und Umber (92) im Pankreas, in der Milz, Leber, Niere, Schilddrüse, Ovarien und Testikeln, von Spitzer, welcher fand, dass solche Nukleoproteine Oxydasen seien, von Petit (65 und 66) im Gerstenkorn, von Steklasa (87) in Blättern, Suzuki (89) bei Polygonum tinctoria und Indigofera tinctoria. Schliesslich ist die von Ascoli (3) in den Hefezellen gefundene plasmatische Säure, in welcher Phosphor reichlich vorhanden ist und deren Abstammung von der Kernsäure, da sie Purin- oder Nukleinbasen enthält, wahrscheinlich scheint.

Welche Funktion des Eisens in der maskierten Verbindung und besonders im Innern des Kernes ist, ist bis jetzt noch ein Gegenstand der Hypothese. Nach Macallum und Spitzer rührt die sauerstofftragende oder oxydierende Kraft von dem vorhandenen Eisen her, aber das kann nicht all seine Funktionen ausmachen. In seiner Geschichte innerhalb der lebenden Materie unterliegt es einer Umlagerung der Stellung im Molekül, welche schwer zu erklären ist. Die maskierte Verbindung in den pflanzlichen Kernen gibt immer ihren vollen Bestand an Eisen an das Glyzerinsulfidreagens ab, wofür eine kürzere Behandlungszeit als für die tierischen Kerne erfordert wird und dies zeigt einen Unterschied in der Bindungsweise. Wenn Mieschers Karyogen eine natürliche und keine künstliche Verbindung ist, so würde dies voraussetzen, dass das Eisen in den wahren Nukleoproteinen mit den Purinen in jenen Verbindungen oder mit den Pyrimidinabkömmlingen darin verknüpft ist. Andererseits wird bei der Umwandlung dieser Nukleoproteine in Hämoglobin das Eisen in eine Atomgruppe, Hämatin, übertragen, welche nicht im Nukleoprotein existiert. Ferner ist das eisenhaltige Vitellin des Dotters, wie schon erwähnt, ein durch Transformation, wenigstens bei Amphibien, von dem wahren Chromatin des Kernes der Eierstockeier abgeleitetes Paranukleoprotein und in diesem Vitellin gibt es weder Purinbasen, noch liefert es irgendwelche Pyrimidinverbindungen. In dem sich entwickelnden befruchteten Ei ist das eisenhaltige Vitellin, wenigstens teilweise, in das eisenhaltige wahre Nukleoprotein, Chromatin, zurückverwandelt und ein Teil, derjenige im Zytoplasma des Myoblast, wird direkt in

Hämoglobin verwandelt. In der Plasmasäure, welche kein Eiweiss enthält, gibt es Purinatomgruppen und eine Phosphorsäure, vielleicht Metaphosphorsäure. Die Stellung des Eisenatoms ist unbekannt, obgleich Ascoli vermutet, dass es mit der phosphorhaltigen Atomgruppe verknüpft ist.

Es ist klar, dass die Umlagerungen, welchen das Eisenatom bei all diesen Wechseln unterliegt, eine radikale ist und da diese Umwandlungen wichtige synthetische Vorgänge in sich schliessen, ist es klar, dass der Unterschied zwischen tierischen und pflanzlichen Zellen in der Fähigkeit maskierte Eisenverbindungen aufzubauen keineswegs so deutlich ist, wie einst angenommen wurde.

Die hervorragendste Tatsache von allem ist die, dass die Eisenverbindung, welche die reichlichste in allen Zellarten ist, diejenige ist, welche als Chromatin bekannt ist. Das ist die Substanz in der lebendigen Zelle, welche die Übertragung der ererbten Eigenschaften besorgt. In der grössten Mehrheit der Zellen befindet sie sich im Kern. Die Membran dieser Struktur lässt sie leicht hindurch diffundieren, wie die Pankreas-, die peptischen und die sich entwickelnden Nervenzellen bezeugen, aber sie scheint wie ein Hindernis sowohl gegenüber anderen organischen Verbindungen wie organischen Salzen zu wirken.

Diese besondere Stellung des Chromatins und die erwähnten Eigenschaften der Membran sind Tatsachen von grosser biologischer Bedeutung, deren Erklärungen am Ende dieses Aufsatzes erörtet werden sollen.

III. Kalium in tierischen und pflanzlichen Zellen.

Ein mikrochemisches Reagens muss, um zum Lokalisieren eines Elementes, eines Salzes, einer Säure oder Base in einem Gewebe benutzt werden zu können, vor allem die Wirkung haben, wenn es letzterem zugesetzt wird, sofort die gesuchte Substanz niederzuschlagen und in jeder Minute anzugeben, wo sie in dem Augenblick, in dem das Reagens zugesetzt wird, vorkommt. Der Niederschlag muss zweitens entweder derartig sein, dass ausserordentlich geringe Mengen davon unter dem Mikroskop zu erkennen sind oder durch irgendwelchen Kunstgriff so erkennbar gemacht werden. Wenn der Niederschlag so gefärbt ist wie der des Eisensulfids, dann bietet sein Erkennen keine Schwierigkeit, aber es können vollkommen ungefärbte wie Kalziumoxalat oder Baryumphosphat sein, von denen eines benutzt wird, um Kalksalze, das andere, um Phosphate in den Geweben zu lokalisieren. Das Problem in letzteren Fällen liegt darin, den Niederschlag sichtbar zu machen, d. h. ihn so zu behandeln, dass ein Teil des Moleküls der niedergeschlagenen Verbindung in einen gefärbten Körper verwandelt wird. Wenn diese Umwandlung nicht anwendbar ist, dann kann die Lokalisation der Verbindung,

deren Verteilung in den Zellen festzustellen ist, nur unvollkommen bestimmt werden.

Bei manchen Elementen, die in den Geweben vorkommen, gibt es eine wesentliche Schwierigkeit. Sie bilden keine Niederschläge oder tun es nur langsam und entsprechen daher nicht der ersten Anforderung eines wirksamen mikrochemischen Reagens.

Natrium ist ein Beispiel für ein Element, welches keinerlei Niederschlag bildet. Seine Verteilung in einer Zelle kann daher nie direkt bestimmt werden.

Kalium wurde bis vor kurzer Zeit in dieselbe Klasse eingeordnet, oder vielmehr, wenn man auch wusste, dass es Niederschläge bildet, jene gewöhnlich gebrauchten, um sein Vorhandensein in Lösungen nachzuweisen, so kannte man andererseits deren langsame Bildung und ferner entwickelt sich das Chloroplatin eigentlich nur in Gegenwart einer beträchtlichen Alkoholmenge, welche von sich aus imstande ist die Verteil ng anorganischer Stoffe in den Zellen zu ändern.

Eine neue Niederschlagsreaktion für Kalium, welche im Jahre 1881 eingeführt wurde, ist in den letzten Jahren als zweckmässig für die Trennung des Kalium gefunden worden, und da der Niederschlag sofort gebildet wird und in sehr kleinen Geweben unter dem Mikroskop erkennbar gemacht werden kann, ist die Reaktion in letzter Zeit öfters angewandt worden, um Kalium mikrochemisch zu erforschen und zu lokalisieren.

Diese Reaktion schliesst in sich ein die Bildung von einem Doppelsalz, Kobaltkaliumnitrit, oder in Gegenwart von Natrium, dreifachem Salz, Kobalt-, Kalium-, Natriumnitrit.

Das Doppelsalz ist seit 1849 bekannt, als Fischer (95) dessen Zubereitung beschrieb; aber erst im Jahre 1881 wurde sein Gebrauch als Trennungsmittel für Kalium befürwortet. De Koninck (98), welcher eine 10%ige Natriumnitritlösung, der er etwas Kobaltchlorid und Essigsäure zusetzte, benutzte, behauptete, dass dieses Reagens empfindlicher als Platinchlorid ist, und dass es, während es mit Ammoniak eine ähnliche aber weniger feine Reaktion gibt, es keine unlöslichen Verbindungen mit Magnesium, Kalzium, Baryum, Strontium oder Eisen bildet. Curtmann (93) fand auch, dass Hexanitrit von Natrium und Kobalt, $CONa_3\ (NO_2)_6$ diese Elemente oder Lithium nicht niederschlägt, während es Ammoniak und besonders Kalium in Gegenwart von Sulfaten, Phosphaten, Nitraten und Chloriden niederschlägt und nur in Gegenwart von Jod einen Niederschlag verhindert. Billmann (91) bereitete eine Form des Reagens, welche Kalium niederschlug, wenn das Chlorid des letzteren so verdünnt war, wie 1 in 27568 einer binormalen Chlornatriumlösung, d. h. wenn das Kalium selbst 1 in 52560 der Lösung ist, während es 1 Teil Kalium in 7626 einer 10%igen Chlornatriumlösung zeigte. Es scheint als ob je konzentrierter das vorhandene Chlornatrium ist,

um so weniger empfindlicher ist das Reagens als ein Fällungsmittel für Kalium und umgekehrt, steigt die Empfindlichkeit stark, wenn das Chlornatrium in der Lösung vermindert wird. Der Verf. hat gefunden, dass wenn das vorhandene Chlornatrium weniger als 1% beträgt, Kalium gefällt wird, wenn letzteres 1 auf 70000 in der Lösung beträgt, und dass, wenn die Verdünnung 1 in 250000 ist, die Kristalle des dreifachen Salzes unter dem Mikroskop gefunden werden können. In solchen Fällen der Verdünnung müssen wenigstens 1/10 des Volumens aus dem Reagens bestehen.

Da der ClNa-Gehalt eines Gewebes normalerweise weniger als 1% beträgt, so würde dies das Reagens sehr empfindlich machen, tatsächlich so empfindlich wie Ammoniumsulfid bei Eisen ist, obgleich nicht annähernd so empfindlich wie die Silberreaktion für Chloride oder die Phenylhydrazinmolybdatreaktion für Phosphate.

Van Leent (107) gebrauchte die Reaktion, um quantitativ das Kalium im Meerwasser zu finden, und er fand, dass die Resultate sehr nahe mit jenen übereinstimmten, welche erhalten wurden, wenn die Bestimmung mit Platinchlorid gemacht wurde. Auch Autenrieth und Bernheim benutzten nach Bestimmungen mit Kaliumchloridlösungen von bestimmter Stärke, welche Resultate gaben, die dem wirklichen Wert ausserordentlich nahe waren, die Reaktion, um das Kalium im Harn ebenfalls mit ganz befriedigenden Resultaten zu ermitteln.

Die Reaktion wurde zuerst mikrochemisch in den Jahren 1903—1904 von Macallum (99) angewandt, und die Form des Reagens war eine Modifikation der Erdmannschen (94). Sie wurde hergestellt, indem man 20 g Kobaltnitrit[1]) und 35 g Natriumnitrit in 75 ccm verdünnter Essigsäure (10 ccm Eisessigsäure verdünnt auf 75 ccm) auflöste. Eine heftige Entwickelung von Stickstoffperoxyd entsteht und sobald diese aufhört, wird die Lösung auf 100 ccm verdünnt, und vorausgesetzt, dass die angewandten Chemikalien frei von Kalium sind, ist es für den Gebrauch bereit. Wenn Kalium vorhanden ist, dann wird der dadurch gebildete Niederschlag, nachdem man sich den grösseren Teil hat setzen lassen, vermittelst Filtration entfernt.

Wenn man eine Menge dieses Reagens einer Kaliumsalzlösung zusetzt, wird sofort ein orangegelber Niederschlag des dreifachen Salzes erzeugt, welcher aus Kristallen, pentagonalen Dodekaedern von verschiedener mikroskopischer Grösse und von chromgelber Farbe besteht. Die Zusammensetzung dieses Niederschlages variiert mit der Menge der Natriumsalze in der Lösung, denn K. Gilbert, welcher Doppelsalz $CONa_3\ (NO_2)_6$ einer Kaliumsalzlösung zusetzte, fand, dass das Kalium von 16,31% bis 18,21%

[1]) Chemisch reines Kobaltnitrit in fester Form kann nicht dargestellt werden, oder wenn es dargestellt ist, kann es nicht auf längere Zeit aufgehoben werden, da ein Teil des Nitrits in Nitrat verwandelt wird. Das ist jedoch unwesentlich, so lange der grössere Teil des angewandten Salzes in Form von Nitrit vorhanden ist.

variierte. Auf Grund dieser Beobachtungen stellte Gilbert für den durch die $CONa_3(NO_2)_6$ verursachten Niederschlag die Formel $CO\begin{matrix}3\,(Na)\\(K)\end{matrix}(NO_2)_6 NO_2 + n\,H_2O$ auf, wobei der Wert n entweder $1^1/_2$, 2 oder $2^1/_2$ ist.

Der Niederschlag ist in Wasser bei gewöhnlicher Temperatur merklich, sehr viel weniger in Wasser dem Gefrierpunkt nahe, löslich. Er ist unlöslich in dem fällenden Reagens und in 80%igem Alkohol, welcher aus dem Niederschlag Spuren des fällenden Doppelkobaltsalzes entfernt. Er ist auch unlöslich in Kaliumnitritlösungen, aber dies kann aus ersichtlichen Gründen nicht benutzt werden, um den Überschuss des Reagens aus dem Niederschlag wegzuwaschen. 80%iger Alkohol kann auch nicht für Gewebe benutzt werden, da er die darin enthaltenen Eiweisskörper koaguliert und sie etwas von dem Reagens zurückhalten lässt. Und es ist sehr schwierig letzteres zu entfernen, wenn es während der Fixationsperiode absorbiert wird.

Die einzige bis jetzt zweckmässig befundene Methode, um Gewebe nach der Behandlung von dem unbenutzten Teil des Reagens zu befreien, ist die, sie mit Wasser von 1—4° C Temperatur wiederholt zu waschen. Das löst nur einen ausserordentlich kleinen Teil des Niederschlages. Die Zeit, während welcher das Waschen fortgesetzt werden soll, muss mit der Menge des Gewebes, die immer, sei sie zerzupft oder in Form von Schnitten, gering sein muss, variieren, die Zeit darf aber nicht 20 Minuten überschreiten.

Hexanitrit des Kobalts und Natrium fällt Ammonium aus seinen Lösungen, aber viel weniger schnell, wenn der Niederschlag Ammonium anstatt Kalium enthält. Dieser Niederschlag ist im Vergleich zu dem von Kalium, in eiskaltem Wasser ausserordentlich löslich. Es ist auf diese Weise möglich ein Missverständnis zwischen dem Ammoniumniederschlag und Kaliumniederschlag zu vermeiden.

Wenn das Reagens zum Zweck einer quantitativen Bestimmung, wie beim Harn, gebraucht wird, werden ungefähr 10 ccm zu 50 ccm Harn zugesetzt. Bei mikrochemischer Anwendung ist es manchmal besser das unverdünnte Reagens für die Gewebe zu gebrauchen, aber manchmal bei Muskelfasern ist das Reagens sehr wirksam, wenn es mit seinem eigenen Volumen einer 50%igen Natriumnitritlösung verdünnt wird.

Die Form der Kristalle und ihre Farbe machen es sehr leicht, wie z. B. bei Spirogyra das Vorhandensein des dreifachen Salzes, wenn Kalium reichlich vorhanden ist, nachzuweisen. Wo es jedoch in Zellen oder im Gewebe nur in Spuren existiert, ist die kristallinische Form nicht vorhanden, und es kann selbst eine gelbe Färbung nicht gefunden werden. Folglich muss irgend ein Kunstgriff gefunden werden, um die Anwesenheit des dreifachen Salzes herauszubringen.

Die zweckmässigste Methode ist die, das gründlich gewaschene Präparat mit einer frischpräparierten Mischung von gleichen Teilen einer Glyzerin- und

Ammoniumsulfidlösung zu behandeln, welch letztere aus verdünnter Ammoniaklösung mit 0,96 spezifischem Gewicht gemacht ist. Dies gibt die schwarze Kobaltsulfidreaktion und ihr Vorkommen an irgend einem Punkt in einem Präparat ist ein Zeichen, dass es dort ein Kaliumsalz gibt und es als dreifaches Salz niedergeschlagen worden ist.

Unter allen in den Geweben gefundenen organischen Verbindungen gibt es nur eine und eine allein, welche einen Niederschlag mit dem Reagens unter denselben Bedingungen wie Kalium gibt. Das ist Kreatin und es bildet auch ein dreifaches Salz, in welchem die Stelle des Kaliums vom Kreatin eingenommen wird. Es bietet jedoch keine ernsthafte Schwierigkeit, da die Verbindung viel löslicher in eiskaltem Wasser ist, als es der entsprechende Kaliumniederschlag ist, und ferner kommt es hauptsächlich in den Muskeln der Wirbeltiere vor, obgleich Valenciennes und Fremy (106) behaupten, dass sie es in den Muskeln der Mollusken gefunden haben, aber Krukenberg (97) leugnet sein Vorkommen in irgend einer Invertebratenart.

Die Resultate der Anwendung des Reagens nach der beschriebenen Art und Weise sind derart, dass sie ihren Charakter mit dem Gewebe und dem Organismus verändern, aber es lassen sich aus diesen Resultaten gewisse summarische Verallgemeinerungen folgern, welche ausgesprochen werden sollen.

Vor allem enthält der Zellkern keine Kaliumsalze oder Verbindungen obgleich letztere sehr reichlich im Cytoplasma, wie normalerweise in den Pflanzenteilen, vorhanden sein können. Dasselbe ist von Cattley (92) in pathologischen sowie normalen menschlichen Geweben beobachtet worden.

Die Abwesenheit einer Kernreaktion rührt nicht von Mangel an Penetration her, denn man kann in der Mehrzahl der frischen Gewebspräparate leicht das Doppelsalz zum Durchdringen des Kernes bringen, ein Resultat, welches erreicht wird, wenn das leicht gewaschene Präparat mit Ammoniumsulfid und Glyzerin behandelt wird, wobei dann der Kerninhalt dunkel oder schwarz erscheint. Zum Beispiel bei Spirogyra ist der Kern leicht für das Reagens zugänglich, welches auch leicht durch Waschen aus demselben zu entfernen ist, aber es ist nie eine Spur des dreifachen Salzes im Organ gefunden worden. Man kann dasselbe Resultat bei Zygnema erhalten, bei welchem auch der Kern für das Reagens leicht zugänglich ist.

Bei Infusorien ist sowohl der Mikronukleus als der Makronukleus frei von Kaliumverbindungen.

Um das Nichtvorhandensein von Kalium in den Kernen zu erklären, kann man annehmen, dass das Cytoplasma beständig alles Kalium aufnimmt und es zurückbehält anstatt es in den Kern, welcher für solches Kalium, das ihn erreicht, zugänglich ist, diffundieren zu lassen. Diese Erklärung genügt nicht, denn der Kopf der Spermatozoen ist bei den meisten Tierarten ein ver-

änderter Kern mit keinem Cytoplasma darum und dennoch, obgleich Kaliumsalze in Lösung in der Samenflüssigkeit sind, wird keine Spur davon in den Köpfen (Oniscus, Jubes, Necturus, Frosch, Meerschweinchen, Ratte und Mensch) gefunden. Nach Mieschers Beobachtungen (54) enthält das Medium des Salmensamens drei Gewichtsteile Kalium auf einen Teil Natrium, es ist jedoch keine Spur von Kalium oder selbst Natrium in den Köpfen zu finden.

Man kann auch annehmen, dass während Kalium in der organischen Form nicht vorhanden ist, es im Kernmaterial „maskiert" vorkommen kann. Es gibt jedoch, soviel wir wissen, keine maskierten Kaliumverbindungen, denn organische Verbindungen dieses Elementes, abgesehen von seinen Salzen, tendieren danach ihr Kalium selbst manchmal explosiv frei zu geben, wenn sie in Berührung mit Wasser gebracht werden. Wenn ferner die für den maskierten Zustand des Eisens in Hämoglobin, Chromatin und in den Ferrozyaniden gegebene Erklärung richtig ist, d. h. dass jedes Eisenatom zwischen zwei Kohlenatomen festgehalten ist, dann kann es kein „Maskieren" eines einwertigen Elementes in einer organischen Verbindung geben. Die Kerne der Pflanzenzellen, mit Ausnahme der von Fungi, geben nicht selten nach Behandlung mit dem Reagens, auf die ein Zusatz von Ammoniumsulfid folgt, eine farbige Reaktion, deren Grund unbekannt ist, aber sie rührt gewiss nicht vom Kalium her.

Das Cytoplasma der Pflanzenzellen mit Ausnahme der der Cyanophaen, enthält immer mehr oder weniger Kalium, während es in den tierischen Zellen, ausser bei den Nervenzellen und Infusorien, vorhanden sein kann. Nervenzellen sind immer frei davon und Infusorien enthalten es in lokalisierter Form in oder um den invaginierten Nahrungsstoff, d. h. das Kalium stammt von aussen aus der Nahrung.

In pflanzlichen Zellen, und in einem gewissen Grad auch in tierischen Zellen, kommen Kaliumsalze oder Verbindungen entweder 1. in diffuser Lösung, oder 2. in dem, was physiologisch „Präzipitation" genannt wird, oder 3. in dem was physiologisch oder biochemisch „Kondensation" genannt worden ist, vor.

Sie kommen gleichmässig in dem Cytoplasma der glatten Muskelfasern und in der Scheibe der kernhaltigen roten Blutkörperchen (Amphibien) vor. In Deckglaspräparaten von letzteren jedoch, infolge von Veränderungen in der Verteilung der Kaliumsalze durch Trocknen derselben, sind die letzteren geneigt sich in der Nachbarschaft des Kernes anzusammeln, wo sie in solchen Präparaten durch das Reagens nachgewiesen werden.

Im Zustand der physiologischen „Präzipitation" kommt es bei vielen Protophyten (Cladophora, Diatomaceen) vor. Der Ausdruck Niederschlag ist nicht der geeignetste hier anzuwenden, denn abgesehen von den Verbindungen, welche sie mit Platinchlorid, Natriumkobalthexanitrit und

ein oder zwei fällenden Reagenzien, von welchen keines ausserhalb des Laboratoriums vorkommt, bilden, sind die Kaliumsalze ausserordentlich löslich und es ist folglich ganz unwahrscheinlich, dass irgend ein rein physikalischer Niederschlag von Kalium im Cytoplasma der lebenden Zellen vorkommt. Aber dies sollte leicht die Möglichkeit ausschliessen, dass es rein physiologische Kaliumniederschläge gibt, wo Verbindungen des Elementes, obgleich immer noch in Lösung im Cytoplasma, durch ihre Beziehungen zu dem kolloiden Material, welches sie enthält, ebenso inaktiv und undiffusibel werden als ob sie in die physikalisch unlösliche Form verwandelt worden wären. Eine solche Erklärung ist die einzige, welche sich bei den konfervoiden Algen anwenden lässt, welche in einem an Kaliumsalzen reichen Milieu aufwachsen, den Eintritt der letzteren zulassen, sie aber auf den Teil des Cytoplasma, welcher unmittelbar unter der Membran ist, beschränken. Bei den Diatomeen sind die Kaliumsalze gewöhnlich an Orten, welche direkt der Untersuchung unterliegen, lokalisiert.

In den Schutzzellen der Stomata von Tulipa, in den Myzelfasern vieler Fungi, in den testikulären Zellen des Oniscus und Frosches, in den Spermazellen der Ratte und des Meerschweinchens sind die kaliumhaltigen Teile sehr bestimmt umschrieben und in den Ovarien und Speichelkanälen der Crustaceen und Insekten ist der niederschlagähnliche Charakter der Lokalisation zeitweise sehr ausgeprägt.

Der biochemisch als „Kondensation" bekannte Zustand ist ebenso schwer zu erklären, aber an seinem Vorkommen kann man nicht zweifeln, z. B. sind bei Spirogyra die Kaliumverbindungen normalerweise in die unmittelbare Nähe des Chromatophors lokalisiert, wobei der Rest des Zellinhaltes frei davon bleibt.

Das auffallendste Beispiel von der Kondensation ist jedoch in den gestreiften Muskelfasern zu finden, deren trübe Streifen bei Insekten normalerweise mit Kaliumsalzen beladen sind, während die hellen Streifen gewöhnlich selbst einer Spur davon ermangeln. In den dunklen Streifen sind sie reichlicher, zwar nicht an, aber nahe dem Ende des „sarcous element" neben den hellen Streifen. Wenn andererseits die Faser kontrahiert ist, so findet man manchmal das zentrale Drittel des dunklen Streifens tiefer mit Kaliumsalzen imprägniert. Bei den Wirbeltieren dringt infolge der Eigenschaften des Sarkolem das Reagens sehr langsam ein und infolgedessen unterliegen, obgleich man finden kann, dass die dunkeln Streifen unmittelbar unter der Membran Kaliumsalze enthalten, während die assoziierten hellen Streifen frei davon sind, die Kaliumsalze tiefer unten in der Faser einer Wiederverteilung, ehe das Reagens sie erreicht, und infolgedessen kann man sie ebenso oft in den dunkeln wie in den hellen Streifen (Frosch) finden. Beim Meerschweinchen wird die normale Lokalisation in den dunkeln Streifen häufiger angetroffen.

Es ist manchmal unmöglich festzustellen, ob sich das cytoplasmatische

Kalium im Zustand der „Kondensation" oder des „Niederschlages" befindet. Erläuternde Beispiele dieser Schwierigkeit kann man in den Blattgeweben (Lilium, Tulipa) und in Exemplaren von Spirogyra finden, welche in den Zustand der Plasmolyse eintreten. In den sekretorischen Zellen des Pankreas (Meerschweinchen und Kaninchen) gibt es eine merkliche Kondensation der Kaliumsalze in dem an das Lumen des Drüsenkanales angrenzenden Teil der Zellen.

In den markhaltigen Fasern sind Kaliumsalze an den Ranvierschen Knoten, in dem Neurokeratinnetzwerk der Markscheide und auch in Ablagerungen an Punkten an dem Axon unter der Markscheide und zwischen den Knoten gefunden worden. Diese Ablagerungen, welche in der Markscheide liegen, sind oft sehr merkwürdig gestaltet. Die Niederschläge an einem Knoten können so ausgedehnt sein, dass sie das Axon in einiger Entfernung auf jeder Seite der Konstriktion der Scheide verdecken.

Die Scheide ist zweifellos sehr unzugänglich gegenüber dem Stoffaustausch zwischen dem Axon und der die Nervenfasern umgebenden Lymphe, und jeder Austausch muss gewöhnlich durch die Knoten stattfinden. Infolgedessen muss das Hexanitrit, um das vorhandene Kalium zu fällen, durch die Knoten hindurch diffundieren, und da diese Diffusion mehr oder weniger die Verteilung der Kaliumverbindungen innerhalb der Scheide verändern muss, kann der gebildete Niederschlag, ausser bei besonders präparierten Exemplaren, nicht als ein solcher angesehen werden, welcher die genaue Verteilung des als vorhanden gezeigten Kaliums angibt.

Macdonald (101) behauptete vor der Veröffentlichung von Macallums Resultaten, dass das in den Nervenfasern vorhandene Salz, welches der Grund für ihre Leitfähigkeit und andere elektrische Phänomene ist, ein Kalium sei und wahrscheinlich das Chloridsalz ist. Nach der Veröffentlichung kehrte er zur Erforschung der Fasern (102) zurück und kam zu dem Schluss, dass, obgleich das Doppelsalz sowohl an den Verletzungsstellen sowie an den Knoten das Vorhandensein von Kalium zeigt, das Element im ganzen Axon vorhanden ist, aber seine Gegenwart ist normalerweise in eine bis jetzt noch unbekannte Form maskiert. Er fand, dass, wenn die Faser absichtlich ihrer ganzen Länge entlang verletzt wird, man keiner Schwierigkeit begegnet, zu zeigen, dass Kalium im intramyelinen Stoff überall in der Faser vorhanden ist. Auch wenn die Fasern in normaler Salzlösung zerzupft und darin eine gewisse Zeit lang liegen gelassen werden, ehe sie mit dem Doppelsalz behandelt werden, wird das Kalium in allen Teilen der Faser gefunden.

Es ist wichtig festzustellen, dass die Menge von Kaliumsalz innerhalb der Nervenfaser einen grossen Grad von Undurchlässigkeit auf seiten der Scheiden, dem Mark und dem Neurilemma postuliert, und wenn letztere unversehrt sind und normal funktionieren, darf nicht erwartet werden, dass

ein Kaliumsalz, wenn es vorhanden ist überall im Axon nachgewiesen werden kann.

Es ist deswegen nicht notwendig, mit Macdonald anzunehmen, dass die Verletzung der Faser das Kalium in seinen Verbindungen aufdeckt, sondern dass die Verletzung auf die eine oder andere Weise die Durchlässigkeit der Scheiden an einem Punkte verändert, und dass natürlich mit der Veränderung der Scheiden auch eine Veränderung des Axons auftritt, welche die von Macdonald beobachtete Erscheinung in mit Neutralrot gefärbten Präparaten hervorbringt. Mit anderen Worten, während die durch Verletzung erzeugte Veränderung verantwortlich für die Gerinnung, die Granula und die Azidität, welche durch das Neutralrot in der Gegend der Verletzung geoffenbart werden, sein kann, stammt die Leichtigkeit, mit welcher die Kaliumreaktion in dieser Gegend eintritt, von der leichteren Durchlässigkeit für das Hexanitritreagens.

Es könnte eingewandt werden, dass, da das Reagens die Kaliumsalze nicht sofort gemäss ihrer Verteilung lokalisiert, man sich deshalb nicht in dem Studium über die Verteilung der Kaliumsalze in anderen Geweben darauf verlassen kann. Man kann als Antwort auf diese Kritik sagen, dass die Nervenfasern den möglichst strengsten Beweis von dem Wert des Reagens bilden, und man kann fragen, wenn das Hexanitrit die Nervenfaserscheiden schnell durchdringen würde, welches ihr Wert unter normalen Bedingungen als undurchlässige Strukturen wäre?

Die von Macdonald aufgestellte Ansicht, dass das Kalium als Chlorid vorhanden ist, ist von Macallum und Menten bestätigt worden, welche indem sie Silbernitrat in Lösung mit Salpetersäure als ein Fällungsmittel für Chloride benutzten, und dann das Präparat dem vollen Sonnenlichte aussetzten fanden, dass die „reduzierte" Silberreaktion in dem Axon je nach dem Umfang des durch das Reagens bewirkten Eindringens der Nervenfaser durch die Ranvierschen Knoten variiert. Infolge des mangelhaften Eindringens können die weit von den Knoten entfernten Teile der Axone keinerlei Reaktion geben, aber wo das Neurilemm fehlt, wie bei den Nervenfasern des Rückenmarks, kann die Reaktion gleichmässig der ganzen Länge der Fasern entlang erzielt werden. Diese Chloridreaktion war, selbst wenn sie mangelhaft war, viel deutlicher als die von der die Fasern umgebenden Lymphe erhaltene, dies zeigt, dass die Chloride verhältnismässig sehr reichlich in den Axonen sind.

Die scheinbare Menge von Kalium in den Nervenfasern und das Fehlen des Kaliums in der Nervenzelle sind Tatsachen, deren Bedeutung uns unbekannt ist. Es ist zu bemerken, dass in der Muskelfaser Kalium viel reichlicher als Natrium vorhanden ist, beim Wirbeltier von 354, beim Frosch bis 1415 beim Hecht, Kalium auf je 100 Natrium betragend[1].

[1]) Nach den Bestimmungen von J. Katz berechnet. Pflüger's Arch. Vol. 93. p. 1.

Der Kaliumreichtum in dem quer gestreiften w[illegible]lkürlichen und Herzmuskel ebenso wie dessen geringe Menge in den glatten Muskelfasern führten Macallum zu der Annahme, dass das Element auf irgend eine Weise mit den Vorgängen, welche für schnelle Muskelkontraktion verantwortlich sind, verknüpft ist. Diese Geschwindigkeit erfordert auch außerordentlich schnelle Stoffwechselprozesse, und deshalb ist es möglich, dass Kalium ein ungemein wichtiger Faktor bei dem raschen chemischen Austausch, welchen die Kontraktion des gestreiften Muskels mit sich bringt, ist.

In dem Axon der Nervenfasern ist der Stoffwechselaustausch auf ein Minimum reduziert, und deshalb muss das vorhandene Kalium einer anderen Funktion dienen. Die annehmbarste Erklärung für dieses Vorkommen ist die von Macdonald gegebene, dass die Leitfähigkeit der Nervenfasern und ihr Vermögen einen Wechsel im elektrischen Potential, was vielleicht das wesentliche im Nervenimpuls ist, fortzupflanzen, von dem vorhandenen Kaliumchlorid abstammt.

Dass Kalium in Pflanzenzellen mit Stoffwechselvorgängen verbunden ist, scheint durch die an Pflanzen ausgeführten Versuche nachgewiesen zu sein, in deren Erdreich der Kaliumgehalt künstlich verändert worden. Das Vorkommen von Kalium bei Spirogyra, in der an das Chromatophor direkt angrenzenden Flüssigkeit, kann von seiner Beteiligung an den synthetischen Prozessen des letzteren Organs herrühren. Wenn die Zelle, bei Zygnema sehr tätig bei der Assimilation ist, dann [illegible] Cytoplasma an und um die Peripherie des Chromatophors mit Kaliumsalzen, die sonst nirgends in der Zelle gefunden werden, gesättigt.

Bei der Entwickelung der primären Wurzelhaare [illegible] der Spore des Equisetum arvense werden die reichlich vorhandenen Kaliumsalze an dem Punkt „kondensiert", wo das auswachsende Haar entspringt und an der Haarspitze, wenn es weiter wächst. In der Verbindung [illegible] Haaren geht [illegible] Auswachsen der Wände zwischen den verbin[illegible] eine „Kondensation" der Kaliumsalze an dem Ursprungspunkt [illegible] bei Cladophora, wo die Entwickelung eines Seitenschösslings [illegible] entsteht, [illegible] sich die Kaliumsalze an dem Punkt und kondensieren sich an der [illegible] des Schösslings so lange wie er fortfährt zu wachsen [1]).

Zweifellos gibt es noch andere von den Kaliumsalzen ausgeführte wichtige Funktionen. In der Granulazone der Pankreaszellen kommen, wie schon erwähnt, Kaliumsalze in beträchtlichen Mengen, besonders nahe dem Rand des Lumens, vor. Hier kommt es natürlich in [illegible] der Zymogengranula, welche ihrer Übertragung in das Lumen vorangeht, vor, und es ist möglich, dass die Kaliumsalze entweder bei der Lösung oder bei der Über-

1) Diese Beobachtungen des Verf. über Spirogyra und Cladophora sind bis jetzt unveröffentlicht.

tragung oder in beiden Prozessen helfen. Da im Lumen keine Kaliumsalze gefunden wurden, scheint es, als ob sie nicht von den Zellen mit den Zymogenen und den Fermenten abgesondert werden.

Zweifellos haben manche Gewebe von sich aus die Fähigkeit, Kalium abzusondern oder zurückzuhalten. Dies scheint die Erklärung für die von Cattley (92) beobachtete Tatsache zu sein, dass die Keratinstrukturen in der Epidermis der menschlichen Haut tief damit imprägniert sind.

Bemerkenswert ist das Vorkommen von Kaliumsalzen bei Fungi und besonders in chytridiazeischen Formen, welche auf Protophyten schmarotzern. Z. B. nach dem Eindringen in die Zellen der Spirogyra enthalten die haustorischen Fäden des Schmarotzers alles Kalium, welches vorher in den Zellen war, und der Verlauf des Mycels kann durch die deutliche Kaliumreaktion, welche es gibt, verfolgt werden.

Ob diese kaliophile Neigung einer bestimmten Funktion dient oder nur ein zufälliges Resultat der Stoffwechselvorgänge des Zytoplasma der Fungi ist, kann nicht festgestellt werden. Es ist zu beachten, dass es unter den Bakterien siderophile Formen und unter den Seenesseln solche gibt, welche aus dem Meerwasser sehr beträchtliche Mengen von Jod trennen und absondern, welches in einer Form, der Bonnemaisonia asparagoides in einem freien kristallinischen Zustand in den Zellen des Protoplasmas gefunden wird (Golenkin).

Man kann aus diesen und anderen Tatsachen schliessen, dass, wenn ein Element in tierischen und pflanzlichen Zellen vorkommt, nicht in jedem Falle daraus folgt, dass es dort eine Funktion ausübt, denn es kann bloss als ein „physiologischer Niederschlag", um es unschädlich zu machen, vorkommen. Ein Teil dieses Kaliums, welches in den Blättern gefunden wird, kann zweifellos als ein solches angesehen werden, denn mit den Atmungsströmen und der Verdunstung an der Blattoberfläche müssen viele grössere Mengen von Kaliumsalzen diesen Organen zugeführt werden, als ihre Zellen wirklich erfordern, und, da sie nicht in das Erdreich zurückgebracht werden können, müssen sie daher in nichtaktive Teile des Zytoplasma als „physiologische Niederschläge" isoliert werden.

Die bedeutendste Tatsache in bezug auf die Beziehung des Kaliums zu der Zelle ist sein Fehlen in dem Kern und in den Köpfen der Spermatozoen, welche modifizierte Kerne sind. Dies schliesst die Nichtanteilnahme des Kaliums an den Lebensprozessen in sich, welche innerhalb der Kerne vor kommen und selbst die Nichtbeteiligung in den fundamentellen Lebensbedingungen selbst, denn die Quelle des von den Spermatozoen ausgeführten Lebensphänomens ist sein Kopf.

IV. Kalzium in den Geweben.

Es gibt keine Farbreaktion, um auf eine direkte Art das Kalzium in den zellulären Elementen zu lokalisieren. Das Oxalat ist ein Niederschlag, welcher selbst Spuren von Kalzium aus Lösungen entfernt, aber da er farblos ist, ist es infolgedessen sehr schwierig, ihn in Gewebspräparaten unter dem Mikroskop, ausser wenn er sehr reichlich ist, sichtbar zu machen. Kalziumsalze in Lösung greifen reines Hämatoxylin an, indem sie teilweise wie Beize auf letzteres wirken, und teilweise wie ein oxydierendes Agens, indem sie daraus eine rote Farbe erzeugen, aber wenn das Kalzium als ein mehr oder weniger unlösliches Salz auftritt, wie z. B. bei den Phosphaten, Palmitaten, Oleaten, Stearaten und Oxalaten, verhindert die mehr oder weniger grosse Unlöslichkeit die beizenden und oxydierenden Wirkungen.

In pflanzlichen Geweben kann Kalzium als Oxalat, Tartrat, Phosphat, Sulfat und Kohlenstoff, und nicht selten in solchen Mengen vorkommen, dass ihre Lokalisation keine besondere Schwierigkeit verursacht. Bei Sphäroiden, wo sowohl Kalzium wie Phosphorsäure reichlich vorhanden sind, fehlt die kristallinische Form und das Vorkommen von beiden muss getrennt nachgewiesen werden.

Die beste Methode, um Kalzium in Gewebsflüssigkeiten zu lokalisieren, ist die, es mit Kaliumoleat zu behandeln, wobei Kalziumoleat gebildet wird, welches die Osmiumsäure reduziert, und der Kalziumniederschlag erscheint infolgedessen schwarz. Da Kaliumoleat ein Kolloid ist, durchdringt es unglücklicherweise nicht leicht frisches Gewebe und es kann infolgedessen eine sehr beträchtliche Wiederverteilung der Kalziumsalze im Zytoplasma entstehen, ehe nur die Kaliumseife anfängt in das Zytoplasma einzudringen.

In letzter Zeit haben Schmorl (71) und andere in ausgedehnter Weise Kossas (112) Methode angewandt, um das Kalzium in pathologischen Niederschlägen, durch die darin vorkommende mit Kalzium verbundene Phosphorsäure, aufzudecken. Wenn tote oder sterbende Gewebe, welche aus Imprägnation resultierende Kalziumphosphate enthalten, mit neutraler Silbernitratlösung behandelt werden, reagiert die Kalziumverbindung mit letzterer und bildet Silberphosphate, welche, wegen der Gegenwart von reduzierenden organischen Substanzen oder wegen Aussetzung an Licht, dunkel und geschwärzt werden, und auf diese Weise wird das Kalzium offenbart; aber in solchen Präparaten ist nicht alle vorhandene Phosphorsäure notwendigerweise weder mit dem Kalzium verbunden, noch ist letzteres insgesamt ein Phosphat (Harvey [110], von Kossa). Diese Methode ist ferner nicht anwendbar für so geringe Kalziumphosphatmengen, wie sie in den normalen Zellen vorkommen.

Wenn das Kalzium vollkommen ein Phosphatsalz ist, kann seine Gegenwart, vorausgesetzt, dass es nicht sehr reichlich ist, vermittelst der Molybdatphenylhydrazinreaktion, welche gebraucht wird, um geringe Mengen von Phosphorsäure zu offenbaren, nachgewiesen werden. Wenn letztere reichlich, wie in den Knochengeweben, ist, dann diffundiert ein Teil davon sofort, sie wird als Säure frei gemacht, weil das bildende Reagens nicht konzentriert genug oder reichlich genug an dem Punkt vorhanden ist, wo die Säure frei gemacht wird, um sich damit zu verbinden und infolgedessen wird die erhaltene Molybdophosphatverbindung nicht da gefunden, wo das Phosphat ursprünglich vorhanden war.

Der Kalzium-Kalium-Ferrocyanidniederschlag, welcher gebildet wird, wenn eine Ferrocyankaliumlösung einer Lösung von Kalziumsalz in Gegenwart von Ammoniumchloriden zugesetzt wird, bildet sich langsam und es ist keine empfindliche Reaktion, da die Konzentration des Kalziums grösser als 1 auf 7000 sein muss, ehe es erscheint.

Eine besondere Farbreaktion ist die von Grandis Mainani (108, 109) eingeführte. Diese besteht darin, Schnitte von gehärtetem oder frischem Gewebe mit einer mit Purpurin gesättigten Lösung in Alkohol zu behandeln, während einer Periode, welche gewöhnlich zwischen 5 bis 10 Minuten dauert; danach werden sie in 0,75%iges NaCl gebracht, worin man sie sehr kurze Zeit lässt (wenige Minuten). Sie werden dann in Alkohol gewaschen, bis er dem Präparat keine Farbe mehr entzieht, worauf sie durch Alkohol entwässert und in Balsam eingebettet werden. Die Reaktion hängt von dem Vermögen ab, welches lösliche Kalziumsalze und besonders Kalziumchloride haben, unlösliche Niederschläge mit Purpurin zu bilden. Die Behandlung mit Chlornatrium geschieht zu dem Zweck, Kalziumphosphate oder Karbonate, welche vorhanden sein können, in Chloride zu verwandeln, welche dann auf das Purpurin wirken.

Diese Reaktion ist anwendbar, wenn die Menge der Kalziumsalze sehr reichlich ist, wie z. B. in den Knochen in den verschiedenen Bildungsstadien, aber sie ist nicht empfindlich genug, um das gewöhnlich im Zellprotoplasma vorhandene Kalzium zu offenbaren, da das Purpurin unangegriffen bleibt, wenn das Ca nur 1 in 800 Teilen Wasser ist. Ferner je mehr es sich bis zu dieser Grenze verdünnt, um so langsamer tritt die Reaktion ein.

Die empfindlichste, im Dienste der Mikrochemie stehende Reaktion für Kalzium ist die mit Oxalsäure als ein Oxalat erhaltene. Der Zusatz von einem oder zwei Tropfen einer Lösung von 5%igem Ammoniumoxalat in 20%iger Essigsäure zu einer Kalziumchloridlösung von 1 Teil Ca auf 40000 bringt sofort einen Kalziumoxalatniederschlag hervor, welcher dem blossen Auge sichtbar ist und selbst wenn es 1 auf 80000 ist, ist der Niederschlag in dem Reagenzrohr erkennbar. Der Niederschlag ist unter dem Mikroskop

sehr leicht zu finden, wenn die Verdünnung so weit bis 1 Teil Ca auf 480000 gebracht worden ist[1]).

Wenn Kalziumsalze in einem Gewebspräparat reichlich vorhanden sind, dann wird das von der Reaktion gebildete Oxalat leicht erkennbar wegen der Menge von kleinen Kristallen. Wenn andererseits das Kalzium in sehr geringer Menge vorhanden ist, können die Kristalle, da sie nur wenige sind, im Zytoplasma nicht zu unterscheiden sein.

Wenn Kalzium nur in sehr geringen Mengen vorhanden ist, hat man zu einer anderen Methode zu greifen, um sein Vorhandensein aufzudecken. Diese besteht darin, dass man das frische Gewebspräparat mit Schwefelsäurealkohol (absoluter Alkohol 100 Teile Volumen, konzentrierte Schwefelsäure 2 Teile) ungefähr 20 Minuten behandelt. Das verwandelt die Kalziumverbindung in Sulfat, das ausserordentlich unlöslich in reinem Alkohol ist. Um das Sulfat sichtbar zu machen, muss man das Präparat mit reinem Alkohol, der frei von jeder Spur von Schwefelsäure ist, waschen. Das Präparat wird dann mit 1%iger reiner Hämatoxylinlösung behandelt, welche, an den Punkten wirkend, wo man das Kalziumsulfat erhält, tief rot gefärbt wird.

Unglücklicherweise sind nur wenige solcher Präparate für mehr als wenige Minuten brauchbar, denn die rote Hämatoxylinverbindung verbreitet sich nicht nur in der Struktur, in welcher sie sich zuerst entwickelte, sondern auch in die Kerne, wo eine solche Reaktion ursprünglich nicht vorkommt. Ferner entwickelt sich die Reaktion langsam und das gestattet im gewissen Umfang Diffusion, ehe die maximale Färbung erreicht wird.

Durch die Anwendung dieser Demonstrationsmethode wird gefunden, dass das Zytoplasma immer, mit Ausnahme der Nervenzellen, Kalziumverbindungen enthält. Dies ist natürlich hauptsächlich der Fall im knochenbildenden Gewebe und es kommt in beträchtlichen Mengen im Zytoplasma der Protophyten, aber in nicht leicht nachweisbaren Mengen in dem der Protozoen vor. Bei Spirogyra und Zygnema kommt es nicht nur in der Zellwand, sondern auch in der Zellplasmaflüssigkeit vor.

Jedoch dank der Schwierigkeiten, die man beim Lokalisieren des Kalziums erfahren hat, ist es nicht möglich, seine feinere Verteilung genauer zu bestimmen.

[1]) Dies gestaltet die Oxalatreaktion zur empfindlichsten für Kalzium im Dienste des Zellchemikers. Sie ist viel empfindlicher als das Sulfat, denn 1 Teil $CaSO_4$ ist, nach Cossas Beobachtungen, in 537 Teilen Wasser bei 22° C löslich, d. h. ein Teil Ca in 1831 Teilen Wasser, während nach Churchs Bestimmungen, 1 Teil $CaSO_4$ in 530 bei 21,2° C löslich ist, was äquivalent zu 1 Teil Ca in 1806 ist. Andererseits ist 1 Teil $Ca_3(PO_4)_2$ in 32300 Teilen Wasser löslich, d. h. 1 Teil Ca in 83300, nach Völker, oder 1 Teil $Ca_3(PO_4)_2$ in 39060, d. h. 1 Teil Ca in 100000, nach Maly und Donath (S. Comey, Dictionary of chemical solubilities pp. 422 und 298). Die Gegenwart von organischen Stoffen, wie Albumin und Gelatin erhöht die Löslichkeit sowohl der Phosphate wie der Sulfate, besonders von ersteren.

Ein Punkt kann jedoch erörtert werden und das ist die Beziehung des Kernes zum Kalzium. Darüber gibt es die Ansichten von Loew (114, 115, 116, 117), dass Kalzium in den Kernen aller Pflanzenformen, ausser bei den niederen Protophyten und Fungi, welche keine Kalziumsalze erfordern, vorkommen. Das Kalzium in den Kernen ist mit den Eiweisskörpern, welche Anteil an der Organisation der Kernstruktur haben, verbunden. Als er die Pflanzenzellen mit 2%iger neutraler Kaliumoxalatlösung behandelte, schrumpften die Kerne ein und die Zellen wurden moribund. Er schreibt dies dem Kalziumniederschlag in den Kernen und dem Ersatz des Kalziums durch Kalium zu, wodurch ihr Imbibitionsvermögen und damit ihre Struktur sich ändert. Da es mit den Veränderungen des Kernes auch solche in den Chlorophyllkörpern gibt, schliesst er daraus, dass letztere Kalziumverbindungen enthalten und dass aus diesem Grunde die Blätter die an Kalzium reichsten Organe sind.

Zur Unterstützung seiner Ansicht weist er auf die Tatsache hin, dass Kalziumsalze stark die Kernvermehrung und die Bildung von Chlorophyllkörperchen fördern, während etiolierte Blätter weniger Kalzium als die grünen in derselben Pflanze enthalten. Wenn ferner in Spirogyra-Kulturen das Kalzium durch Strontium ersetzt wird, dann entsteht eine mangelhafte Entwickelung der transversen Zellwände (Molisch [119]). Da die Entwickelung der Zellwand von der Kerntätigkeit und Funktion abhängt, folgert er daraus, dass die Kerne primär durch den Mangel des Kalziums angegriffen werden.

Loew will auch die Giftigkeit des Oxalates in tierischen Formen (Kopepoden, Rotifere, Ostrakoden, Planaria und Insektenlarven) dadurch erklären, dass sie die Kalziumsalze in ihren Zellen und Kernen fällen und sie auf diese Weise ihrer physiologischen Verbindungen berauben.

Kürzlich (118) hat er besonders die Wirkung von neutralem Kaliumoxalat, Fluornatrium, Dikaliumkarbonat auf Spirogyra untersucht und gefunden, dass sie praktisch dieselbe Wirkung auf Kerne haben, d. h. die Kerne schrumpfen und werden getötet. Dieses Resultat kann nur dadurch erklärt werden, dass es von der Entfernung des Kalziums aus der Lösung im Kernmaterial stammt, besonders da andere Reagenzien, wie Mono- und Dikaliumphosphate und Kaliumnitrate, alles gleich verdünnte Lösungen, keine solche Wirkung haben.

Es muss angenommen werden, dass, da neutrales Kaliumoxalat nicht das Vermögen von selbst besitzt, zu demaskieren, das Kalzium, von welchem Loew glaubt, dass es im Kern vorhanden ist, als eine anorganische Verbindung da sein muss. Nun verwandeln Kalziumsalze Hämatoxylin in wässeriger Lösung in eine rote Verbindung und doch, wenn wässerige Hämatoxylinlösungen auf frische Spirogyra angewandt werden, entsteht die Erzeugung der roten Verbindung in der Zellflüssigkeit, aber nicht im Kern. Die Kerne

geben auch in keiner Form, weder in tierischer noch pflanzlicher, die Reaktion und doch, wenn sie Kalziumsalze enthielten, würden sie es tun.

Man kann tatsächlich annehmen, dass die Kernmembran das Eindringen des Reagens verhindert und das ist ein beachtenswerter Faktor.

Einige von Loews Untersuchungen können anders erklärt werden, als er es zu tun versuchte. Sowohl das Schrumpfen der Kerne als auch die Veränderung der Chromatophor- und Chlorophyllkerne würden auf einen grösseren osmotischen Druck ausserhalb der Kerne als in ihrem Innern schliessen lassen und obgleich das die Entfernung des Kalziums in den Kernen aus der Lösung durch Niederschlag postuliert, erfordert es auch, dass das Kalium des Oxalats ausserhalb der Kerne bleibt, um den osmotischen Druck in den Kernen zu verringern. Ist es nicht leichter anzunehmen, dass das Kaliumsalz, welches ganz im Zytoplasma ist, den osmotischen Druck dort erhöht?

Es ist zu bemerken, dass man im Kernstoff, wenn er isoliert wird, nur mit einigen Ausnahmen hat zeigen können, dass er Kalzium enthält. Diese Ausnahmen waren die von Spitzer (80) isolierte Nukleinoxydase der Leber, das von Lönnberg (113) dargestellte Nukleoprotein der Niere, das von Halliburton (27) aus der Leber und Niere extrahierte Nukleoalbumin, in deren Asche ausnahmslos Kalzium gefunden wurde. Dies kann eine aus den Vorbereitungsmethoden entstandene Verunreinigung sein, denn es ist ausserordentlich schwierig, organische Kolloide von anorganischen Stoffen frei zu machen (wie Macallum bei den Eiweisskörpern gezeigt hat), welche wenigstens acht Fällungen mit chloridfreiem Ammoniumsulfat erfordern, um das anhängende Chlornatrium zu entfernen. Andererseits dank dem anscheinenden Fehlen des Vermögens des Kalziums maskierte Verbindungen mit organischem Material zu bilden, muss die Vorstellung von Nukleinverbindungen in einer vermutungsweise reinen Form in einem gewissen Umfang die Entfernung des Kalziums aus solchen Verbindungen in sich schliessen, wenn sie ursprünglich damit verbunden waren.

Die einzige direkte Beobachtung über das Vorhandensein von Kalzium im Kernmaterial ist die von Miescher (54). In den Köpfen der Spermatozoen des Lachses fand er bis zu 0,23 % Kalzium und er nimmt es als bewiesen an, dass das Element ein normaler Bestandteil in den Köpfen ist. Mit was es verbunden ist, ist schwer aus seinem Bericht zu erkennen, aber er erhielt es teilweise als ein Phosphat und teilweise als ein Sulfat. In bezug auf letzteres sind seine Angaben nicht klar. An einer Stelle sagt er, dass die Schwefelsäure der Kalziumverbindung von der Natriumsulfatlösung stammt, welche gebraucht wird, um die Köpfe zu isolieren, während man ihn wo anders sagen lässt, dass es von dem Schwefel des organischen Stoffes der Köpfe stammt, welches bei Verbrennung mit Soda und Natriumnitrat SO_3 wird. Er fand ferner, dass Karyogen, von welchem er glaubt, dass es in

den Köpfen vorkommt und welches er als frei in den Hauptteilen dieser Strukturen ansieht, eine unlösliche Verbindung mit Kalzium bilden kann. Letzteres kann daher nicht innerhalb der bedeckenden Membran, welche basische Reaktion besitzt, während der Inhalt sauer ist, enthalten sein.

Die Sorgfalt, mit welcher Miescher seine Analysen ausführte, geben keine Veranlassung zur Vermutung, dass das Kalzium eine Verunreinigung in seinen Präparaten war und die einzige Frage ist die, in welcher Verbindung es existiert. Nicht als Phosphat, das ist klar, denn Phosphorsäure war nur in Spuren vorhanden (es wurden höchstens nur 0,06 % davon gefunden) und er nahm an, dass dies direkt von zersetzter Nukleinsäure stammte. Es konnte nicht als ein Chlorid vorhanden sein, denn wie Macallum gezeigt hat, sind die Köpfe frei von Chlorid. Wäre es als Sulfat, Phosphat oder Karbonat vorhanden, so wäre es mehr oder weniger unlöslich und es wäre mehr von struktureller als von chemisch funktioneller Bedeutung.

Man wird praktisch zu der Annahme geführt, dass das Kalzium in der die Köpfe deckenden Membran und in der Form einer anorganischen Verbindung vorhanden ist. Es ist bestimmt nicht als eine anorganische, verhältnismässig lösliche Verbindung vorhanden, denn wenn dem so wäre, dann müssten reine wässerige Hämatoxylinlösungen den Köpfen (nach Fixation in Alkohol) eine rötliche Färbung verleihen, was nicht geschieht.

Diese Annahme steht im Einklang mit des Verf. Schlüssen über die Wirkung reiner wässeriger Hämatoxylinlösungen auf die Kerne pflanzlicher Gebilde (Tulipa, Erythronium, Lilium), dass die Kernmembran eine Kalziumverbindung oder Verbindungen enthält. Wenn dieser Schluss richtig ist und der Verf. will ihn nicht ohne Zurückhaltung aufstellen, dann würde er das Schrumpfen des Kernes unter der Wirkung verdünnter Kaliumoxalatlösungen dahin erklären, dass sie von dem Kalziumniederschlag in der Membran und der Konzentration der Kaliumionen an ihrer Oberfläche herrührt mit der daraus folgenden Volumenverringerung der Flüssigkeit innerhalb des Kernes. Diese Veränderung in der Zusammensetzung allein würde ernste Störungen in der Beziehung zwischen dem Kern und dem Zytoplasma herbeiführen und es würde alle Phänomene erklären, welche Loew in seinen Untersuchungen über diesen Gegenstand beobachtet hat.

Dass Kernmaterial Kalziumverbindungen enthalten kann, scheint durch die Resultate der von dem Verf. angestellten Untersuchungen über die Zellen des Parenchym des Stammes des Erythronium und Tulipa bewiesen zu sein, da aber diese sehr veränderte, praktisch degenerierte Strukturen sind, kann kein Schluss aus diesen Resultaten, welche für die normalen, aktiv wachsenden zellulären Elemente sind, gezogen werden. Selbst in diesen anormalen Zellen ist die Reaktion am deutlichsten in den Kernmembranen.

Die Bedeutung des Kalzium als ein Skelettbestandteil im tierischen Körper ist seit lange erkannt. Dass es noch andere Funktionen hat, kann

man aus den schon erwähnten Tatsachen schliessen. Die Assimilation des Kalzium selbst für Skelettzwecke hängt von irgend einer primären Funktion ab, welche auch die Assimilation des Eisens in sich schliesst, denn Gierke (21) und Schmorl (71) haben gefunden, dass in dem sich entwickelnden Knochen in normalen Tieren die Kalziumablagerungen mit einer Imprägnation des Knochenmaterials mit Eisen verbunden ist, welches jedoch im gut entwickelten Knochen und in den Knochengeweben bei Rachitis fehlt, wobei es, wie bekannt, einen grossen Mangel an Kalzium gibt; eine Eisenreaktion wurde nur da erhalten, wo Kalziumsalze auch abgelagert wurden. Schmor beobachtete das auch bei zehn Fällen von Osteomalazie.

Das Schlusswort über die Verteilung des Kalzium in tierischen und pflanzlichen Zellen und über die Rolle oder die Rollen, welche es im zellulären Stoffwechsel spielt, kann erst gesprochen werden, wenn eine ebenso empfindliche Farbreaktion für Kalzium wie Ammoniumoxalat in der Gegenwart von Essigsäure als ein Fällungsmittel dem Mikrochemiker zu Hilfe kommt.

V. Kupfer in tierischen und pflanzlichen Geweben.

Die erste Untersuchung über das Vorkommen von Kupfer in tierischen Geweben wurde von Harless und Bibra (133) im Jahre 1847 angestellt, welche Phosphat im Blut der Cephalopoden fanden. Später stellte Fredericq (131) fest, dass Kupfer in Verbindung mit Eiweisskörpern im Blut der Crustaceen und Mollusken vorkommt. Diese Verbindung, welche er „Hämozyanin" nannte, ist farblos und fähig, sich mit Sauerstoff zu verbinden und wenn sie Sauerstoff aufnimmt, gibt sie dem Blut eine bläuliche Färbung. Fredericq hielt sie für vergleichbar mit Hämoglobin.

Henze (134) hat sorgfältig die Eigenschaften dieser Verbindung untersucht und fand, dass sie 38% Kupfer enthält, welches so gebunden ist, dass man es mit Salzsäure oder Essigsäure (1%) behandeln muss, ehe es anfängt, die charakteristische Reaktion mit Ferrocyankalium zu geben und dann entwickelt sich die Reaktion nur allmählich. Das Kupfer steht daher nicht mit dem Protein in einer so festen Verbindung als wie Eisen im Hämoglobin, aber es ist trotzdem maskiert. Henze nannte die Verbindung ein Kupferalbuminat.

Kupfer ist jedoch nicht auf das Blut von Mollusken und Crustaceen beschränkt, denn Daste und Floresco (125), Boyce und Herdmann (122, 136), Henze (135) und andere haben gezeigt, dass Kupfer ein Bestandteil der Leber und anderer Organe bei den Cephalopoden ist. Boyce und Herdmann haben gefunden, dass Austern aus verschiedenen Quellen Kupfer in einem Umfang enthalten, welcher zwischen 0,3% bis 1,18% der gesamten

Asche oder im Durchschnitt 0,0004 g pro Auster variiert. Man fand, dass das grüne Pigment, welches normal in manchen Austern vorkommt, Kupfer enthält.

Henze hat die Kupferverbindungen in den Lebern des Octopus, Eledone und Lepia untersucht und gefunden, dass eine von ihnen ein im Wasser lösliches Nukleoprotein ist, welches 0,45% Kupfer und 0,32% Eisen enthält. Ein anderes ist ein Pigment von nicht eiweissartigem Charakter, welches aber Phosphor (P_2O_5 = 4,7%) enthält und mit 1,3—7,8% Kupfer verbunden ist. Die Totalmenge des Kupfers in der Leber war zehnmal soviel als die Eisenmenge.

Die anderen Organe sind nicht sorgfältig nach Kupfer untersucht worden, aber dass sie es mehr oder weniger gleichmässig enthalten, scheint durch die Entdeckung von Dheré (129) von Kupfer im Ei des Tintenfisches nachgewiesen worden zu sein.

Auf das Vorkommen von Kupfer in Wirbeltieren wurde zuerst von Church (123) hingewiesen, welcher aus bestimmten Schwung- und Schwanzfedern des Tourax (Turacus) ein kupferhaltiges Pigment isolierte, welches seinen spektroskopischen Eigenschaften nach ausserordentlich dem Hämoglobin glich. Dieses Pigment, welches er Turacin nannte, gibt in Lösung sein Kupfer an Reagenzien nur mit Schwierigkeit ab. Die Quelle des Kupfers bei diesen Vögeln ist der Pisang, welcher ihre Nahrung ausmacht. Die Banane, welche gelegentlich ihre Nahrung ist, enthält auch Kupfer.

Halliburton (27) fand in der Asche der Nukleoproteine der Leber gelegentlich kleine Kupfermengen.

Slowtzoff (137) führte in Kaninchenmagen täglich 0,200 g Kupfersulfat in Lösung ein und untersuchte nach vier Tagen ihre Lebern auf das assimilierte Kupfer. In den meisten Fällen war es an die Nukleine gebunden, in welchen es jedoch nicht eine besondere konstante Verbindung ist, denn es wird leicht von 0,3%iger Salzsäure angegriffen und wird leicht durch Pepsin und Salzsäure zersetzt.

Es ist schon darauf hingewiesen worden, dass die Nukleine die Eigenschaft haben, Eisensalze zu absorbieren und es ist möglich, dass das von Slowtzoff erhaltene Kupfernukleinat ein Beispiel für ein Nuklein ist, welches nur Kupfer absorbiert und sich nicht damit verbindet. Die Tatsache, dass Pepsin und Salzsäure alles Kupfer aus diesen Verbindungen entfernt, macht diese Erklärung zu der wahrscheinlicheren.

Es darf nicht vergessen werden, dass Kupfer Eisen in manchen maskierten Verbindungen ersetzen kann, wie Laidlaws (38) Erfolg bezeugt, als er aus Hämatoporphyrin eine Kupferverbindung herstellte, welche in jeder Hinsicht sich wie das Turacin von Church verhielt, indem sie das Absorptionsspektrum von Oxy-Hämoglobin und einen Gehalt von 6,99% Kupfer hatte, während die natürliche Verbindung 7,1% hatte. In beiden ist das Kupfer

nur mit konzentrierter Schwefelsäure entfernbar, wie beim Eisen im Hämatin.

Da es Laidlaw auch gelungen ist, Hämatoporphyrin und Eisen zu verbinden, um Hämatin zu bilden, ist der Hinweis unverkennbar, dass Kupfer Eisen in einer seiner maskierten Verbindungen ersetzen kann. Die Kupferverbindung enthält drei Moleküle Hämatoporphyrin auf jedes Kupferatom, welches dort deshalb dreiwertig sein muss.

Das Turacin stammt daher beim Tourax aus einer Synthese von Kupfer und eisenfreiem Hämatin. Es lässt an die Möglichkeit denken, dass es andere maskierte Kupferverbindungen in den Geweben dieser Tiere gibt. Church (124) war jedoch nicht imstande, solche oder irgend eine Kupferverbindung im Blute zu finden.

Es ist nichts über ihr Vorkommen bei Wirbeltieren bekannt. In der Leber der Cephalopoden ist auch, wie Henze gefunden hat, in dem kupferhaltigen Nukleoprotein Eisen enthalten, aber er sagt nicht, in welcher Form man es darin erhält. Die grosse Menge an Kupfer in der Leber dieser Arten, verglichen mit dem vorhandenen Eisen, lässt an die Möglichkeit denken, dass Kupfer das Eisen im Chromatin, wenigstens bis zu einem bestimmten Grade, ersetzt.

Hierüber sind keine mikrochemischen Untersuchungen angestellt worden.

In bezug auf die Verteilung des anorganischen Kupfers haben wir nur die Resultate von Boyce und Herdmann (122, 136).

Diese Forscher benutzten die saure Ferrocyanidreaktion und sie bedienten sich auch der wässerigen Hämatoxylinlösung, welche eine violette Reaktion mit Kupferverbindungen gibt, um das Vorhandensein des Elementes in den verschiedenen Teilen der Auster zu zeigen. Sie fanden, dass in der grünen, durch eine sehr deutliche Leukocytosis gekennzeichnete Auster die grünen Leukozyten eine entschiedene, auf die Granula in ihrem Zytoplasma beschränkte Reaktion auf Kupfer geben. Das grüne Pigment ist in jeder Hinsicht eine kupferhaltige Verbindung. Die Blutgefässe in solchen Austern können durch die Farbe, welche ihrem kupferhaltigen Inhalt von der sauren Ferrocyanidreaktion gegeben wird (braun), gekennzeichnet werden.

Bei allen Austern gibt es eosinophile Elemente, wie die Leukozyten, welche nicht in den Blutgefässen, sondern nur in den Geweben vorkommen. Diese geben bei den grünen amerikanischen Austern eine deutliche Reaktion mit Hämatoxylin für Kupfer und die Reaktion tritt in den Granula im Zytoplasma ein.

Bei farblosen Austern ist eine solche Demonstration des Vorkommens von Kupfer nicht erreichbar.

Diese Forscher haben nicht die Erscheinungen beschrieben, welche die Kerne der grünen Leukozyten und der eosinophilen Zellen zeigten und es

ist anzunehmen, dass Kupfer, wenigstens in einer anorganischen Form, nicht vorhanden war.

Es ist kein Versuch gemacht worden, mikrochemisch das Hämocyanin, welches bei allen Austern in mehr oder weniger geringen Mengen vorhanden ist, zu lokalisieren und es ist daher unentschieden, welche Rolle, wenn überhaupt eine, das anorganische Kupfer in der Erzeugung des Hämocyanin spielt. Die Reichhaltigkeit von Kupfer in den Lebern der Cephalopoden kann vielleicht nicht mehr als das bedeuten, dass der grössere Teil davon das Resultat der Aufnahme der kupferhaltigen Nahrung ist und dass diese Reichhaltigkeit zur Bildung von Hämocyanin führt, ebenso wie Kupferreichtum in der Nahrung von Musophagen Vögeln Turacin entstehen lässt.

Die grosse Variationsbreite der Kupfermenge bei Austern, das 3,75 fache bei den grünen Arten, im Vergleich zu den weissen, beide aus Amerika stammend, zeigt, dass das anorganische Kupfer in sehr reichem Masse das Resultat grosser oder geringerer Verunreinigung mit kupferhaltigem Wasser ist. Das Vorkommen der absorbierten anorganischen Verbindung nur bei den Leukozyten und in eosinophilen Zellen extravaskulärer Herkunft ist ein klarer Beweis, dass diese Zellen das Kupfer unschädlich machen, in dem sie es in einer granulären Form in ihrem Zytoplasma aufstapeln.

Die Geschichte des Kupfers in den tierischen Zellen kann erst deutlich festgestellt werden, nachdem seine Verteilung in tierischen und pflanzlichen Formen mit ebensoviel Sorgfalt erforscht worden ist, wie sie dem Eisen zugewendet worden ist.

Es ist absolut nichts in bezug auf die mikroskopische Verteilung des Kupfers in Pflanzenarten geschehen, von denen man weiss, dass sie das Element enthalten.

VI. Die Verteilung der Chloride in Zellen und Geweben.

Für die Lokalisation der Chloride in den Geweben steht dem Zellchemiker eine der empfindlichsten Reaktionen zu Gebote, nämlich die, welche sich durch die Behandlung des frischen Gewebes mit Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure, der eine Aussetzung ans helle Sonnenlicht folgt, erhalten lässt.

Der Gebrauch von Silbernitrat wurde in die Histologie von Coccius (152) im Jahre 1854 eingeführt. Es wurde jedoch nicht vor dem Jahre 1905 zu einem chemischen, sondern zu einem morphologischen Zweck gebraucht. Erst in sekundärer Weise wurde der chemische Charakter der Verbindung als ein Gegenstand des Interesses erkannt und dann einfach deswegen, weil die Resultate bei dem Gebrauch des Reagens nicht immer gleichförmig waren. Der Hauptwert des Reagens lag für die früheren Forscher in der

Tatsache, dass nach Imprägnation mit Silbernitrat und Aussetzung des Präparats ans Licht die Umrisse der Zelle offenbart und dadurch die Struktur der Lymphgefässe und der Lymphgewebe gezeigt wurden, da die Umrisse durch die braune Reaktion gezeigt wurden, welche sie in solchen Präparaten offenbaren. Von Recklinghausen (187), der einer der ersten war, welcher das Reagens zu diesem Zweck benutzte, glaubte, dass das Silbersalz in dem, was er als Kittsubstanz zwischen den Zellen ansah, niedergeschlagen ist, und dass dieses Kittmaterial unter den Einfluss von Licht das Silbersalz „reduziert". Es wurde hervorgehoben, dass die Reaktion nicht auf die Zellperipherien und das intrazelluläre Material beschränkt ist, denn die Präparate zeigten manchmal, dass die Reaktion im Zytoplasma der Zellen stattgefunden hatte, aber dass sie in den Membranen und den intrazellulären Strukturen fehlte.

Dieser letztere Zustand war, im Vergleich zu den anderen, als die positive Reaktion oder das positive Bild bekannt und wurde von Schweigger-Seidel (196) der Zersetzung und Wiederverteilung des Silberniederschlags zugeschrieben, welcher, da er in der normalen Zelle das negative Bild gibt, in den intrazellulären Räumen und Grenzen gefunden wird, d. h. in der Kittsubstanz von von Recklinghausen. Schweigger-Seidel behauptete, dass die Zersetzung durch die Chloride zustande gebracht wurde, indem sie Silberchloride aus dem Eiweissniederschlag in dem intrazellulären Material bildeten, wobei sich das so gebildete Silberchlorid in Gegenwart der Chloride auflöst und so in das Zytoplasma diffundiert, wo es unter dem Einfluss von Licht zu Subchlorid wurde. Er bewies es, indem er Präparate nahm, welche mit Silbernitrat behandelt, aber nicht dem Licht ausgesetzt worden waren, und sie mit Ausschluss von Licht in eine Natriumchloridlösung brachte. Bei diesen wurde, wenn sie durch Licht reduziert waren, das gefärbte Silbersalz oder die Verbindung hauptsächlich im Zytoplasma erhalten.

Hüter (167) sah das positive Bild an als entstanden durch Diffusion der Kittsubstanz in das Zytoplasma und aus der darauffolgenden intrazellulären Fällung der Silberverbindung.

His (166) äusserte im Jahre 1862 die Ansicht, dass die mit dem Reagens behandelte Silberverbindung in der Cornea keine Eiweissverbindung, sondern Silberchlorid ist, denn wenn das Präparat mit Quecksilbernitrat, welches Silberchlorid auflöst, behandelt wird, wurde aller Silberniederschlag gelöst, was nicht geschehen würde, wenn irgend ein Teil der Verbindung Silberalbuminat gewesen wäre. In späteren Untersuchungen (167) gab er jedoch zu, dass der Silberniederschlag ebenso gut ein Albuminat wie ein Chlorid enthalten kann und dass sich beide unter dem Einfluss von Licht reduzieren. Eine ähnliche Ansicht äusserten Harpek (160), Hartmann (161), Auerbach (146) und Henle (163).

Schwalbe (194) beobachtete, dass, wenn die zu untersuchende seröse Membran zuerst mit 4%iger Zuckerlösung gewaschen wird, die darauf folgende Behandlung mit Silbernitrat nicht die gewöhnlich erhaltenen Silberlinien hervorbringt und er schloss daraus, dass die von Recklinghausensche Kittsubstanz nichts mit der Reaktion zu tun hat, welche von einem Eiweissstoff herrührt, der weggewaschen werden kann. Legros (172) glaubte, dass das ganze Zytoplasma eine Färbung erhielte, und dass infolgedessen die dunklen Linien zwischen zwei angrenzenden Zellen, die Berührungsoberflächen von zwei schwach gefärbten protoplasmatischen Massen sind, während Feltz (150) und Severin (198) behaupteten, dass die Silberlinien künstliche Produkte sind, wie man sie durch ähnliche Behandlung von Material erhalten kann, welches kein Epithel enthält (Albumin und Kollodiumfilms).

Soboroff (199) nahm von Recklinghausens Ansicht an, aber Reich (189) verwarf sie, indem er glaubte, dass die Silberlinien nicht im Kittmaterial, sondern in einem Teil der Flüssigkeit zwischen den Zellen, wobei es einen Niederschlag gibt, entstehen, über deren Natur er sich nicht entschied. Robinski (190) leugnet auch die Existenz von Kittstoff, da er fand, dass die Zellränder, wie z. B. die des Epithels der Descemetschen Membran, sich zuerst färben, dass die Reaktion langsam in das Zytoplasma vorrückt und schliesslich die ganze Zelle gefärbt ist, was nicht sein dürfte, wenn von Recklinghausens Ansicht richtig wäre. Ferner ist eine Kittsubstanz unnötig, um den Kontakt und die Adhäsion der Zellen zustande zu bringen.

Alferow (145) betrachtete den Silberniederschlag, welcher sich unter der Wirkung von Licht reduziert, als eine Mischung der Chloride und Albuminate, da die freien Säuren (Pikrinsäure, Essigsäure, Milchsäure und Zitronensäure), welche er gebrauchte, alle anderen Niederschläge auflösten, aber Adamkiewicz (144) glaubte, dass nur das Albuminat in den Silberlinien vorkommt, und dass letztere nur in den Kittsubstanzen sind.

Unter den späteren Forschern, welche das Reagens benutzten, nahm Boveri (147) praktisch Legros Erklärung an, dass die Silberlinien der optische Ausdruck der Berührungsoberflächen der angrenzenden Zellen sind, da er fand, dass in den Blutgefässen der Silberniederschlag zwischen den Berührungsoberflächen der roten Zellen wie zwischen den Endothelzellen vorkommt. Was der Niederschlag ist, sagte er nicht. Rabl (184) sah es als wahrscheinlich an, dass das Reagens sich mit Eiweiss verbindet, um ein Silbernitratprotein zu bilden durch eine Vereinigung der Moleküle, analog zu dem Vorgang, welcher die Fällung von Harnstoff durch Quecksilbersalze zustande bringt. Dass die reduzierte Verbindung kein metallisches Silber ist, zeigt sich durch ihre Löslichkeit in Natriumthiosulfat. Mann (177) glaubte, dass der Niederschlag wahrscheinlich ein Protein in Verbindung mit dem Chlorid und Karbonat ist.

Aus dieser Übersicht ist ersichtlich, dass beträchtliche Verwirrung unter den Histologen in bezug auf die Natur der Silberverbindung, welche unter der Wirkung des Lichtes reduziert wird, herrschte; einige glaubten, dass es eine Mischung von Chlorid mit Albuminat ist, die beide bei Lichtexposition gefärbt werden, andere postulierten nur das Vorhandensein von Albuminat.

Die Ursache zu dieser Verwirrung liegt in der Erkenntnis der Tatsache, dass es viele organische, sowie anorganische Verbindungen gibt, welche sich mit Silber verbinden, um Produkte zu bilden, welche unter der Wirkung des Lichtes „reduziert" werden. Ein weiterer Faktor in dieser Verwirrung ist die ausserordentlich unbestimmte und fragmentarische Kenntnis, welche in bezug auf die Natur der „Reduktion" herrscht, eine Bezeichnung mit weiter Bedeutung, indem es einerseits in dem Sinne angewandt wird, dass es die Zersetzung der Silberverbindung, bei welcher metallisches Silber frei wird, bedeutet, andererseits für diejenige Veränderung in der Verbindung gebraucht wird, in welcher die Menge des Elementes oder der Substanz, die mit Silber gebunden ist, vermindert wird. Beide Typen können in frischen, mit Silbernitrat behandelten Gewebspräparaten gefunden werden. Die Reduktion in einen metallischen Zustand geschieht, wenn alkalische Lösungen des Salzes in Berührung mit dem lebenden Protoplasma kommen (Loew und Bokorny [144]) und wenn Silbernitrat in alkalischer Lösung mit Harnsäure, Levulose, Dextrose, Derivaten von hydroxyliertem Benzol, Hydrozin und Aldehydverbindungen erhitzt wird. Selbst in neutralen Lösungen haben hydroxylierte Benzolverbindungen dieselbe Wirkung auf Silbersalze. In diesen Fällen ist das metallische Silber schwarz und ist nicht in den Lösungen (Natriumsulfat usw.) löslich, welche Chlorid oder Subchlorid von Silber auflösen.

Die Schwierigkeit, die Silberreaktion in den Geweben zu erklären, liegt nicht in dem Vorgang der Reduktion zu dem metallischen Zustand, obgleich das ein bei der Behandlung von frischem Gewebe zu beachtender Faktor war, sondern in der Bestimmung, dass, wenn die „Reduktion" des anderen Typus eintritt, von was sie herrührt.

Ausserdem besteht noch die Frage, was diese „Reduktion" ist. Einerseits haben wir Carey Lea (148, 149), welcher bei den Chloriden, AgCl, behauptet, dass die Reduktion zu dem Subchlorid Ag_2Cl führt, welches die violette, rötlich-violette oder bläulich-violette Verbindung, welche in Massen beobachtet wurde, ist, aber Hodkinson (178) betrachtet dies Produkt als ein Oxychlorid, Ag_4OCl_2, bei welchem es keine Reduktion gibt, sondern eine Substituierung von Sauerstoff für die Hälfte des Chlors. Das jetzige Beweismaterial ist ganz zugunsten von Carey Leas Ansicht, besonders da es Guntz (159) gelungen ist, das Subfluorid zu bereiten, Ag_2F, aus welchem er durch Substituierung das Subchlorid, Ag_2Cl, das Subjodid, Ag_2J, das Subsulfid, Ag_4S, und das Suboxid, Ag_4O, erhielt.

Es ist daher klar, dass es in den Geweben, als Resultat der Reduktion, nicht nur das Subchlorid, sondern auch das Subsulfat, das Subkarbonat und das Subphosphat gibt, um gar nicht zu reden von den entsprechenden Verbindungen der organischen Säuren, die vorhanden sein können.

Diese bieten jedoch, wie Macallum (175) gezeigt hat, keine Schwierigkeit, da man bei der Untersuchung der Verteilung der Chloride verhindern kann, dass sie in einem Präparat erscheinen, indem man dem Silberreagens eine Menge Salpetersäure zusetzt. Die Aufgabe war, zu bestimmen, ob es auch in Gegenwart der Salpetersäure nichtorganische Verbindungen gibt, welche unter dem Einfluss von Licht Reduktionsprodukte geben, welche mikroskopisch nicht von den Subchloriden zu unterscheiden sind.

Ausser den Proteinen ist die Anzahl der in Betracht kommenden organischen Verbindungen in tierischen und pflanzlichen Geweben gering, und Macallum fand, dass in der ganzen Reihe nur Sulfocyanidsäure, Cyansäure, Taurin und Kreatin mit Silbernitrat Verbindungen geben, welche in Gegenwart der Salpetersäure und unter der Wirkung von Licht farbige Reduktionsprodukte bilden [1]). Alloxan und Alloxanin scheinen die Eigenschaft zu haben, Silbersalz in metallisches Silber, selbst in Gegenwart von verdünnter Salpetersäure, zu reduzieren.

Es bleiben nur noch die Eiweisskörper und es ist klar, dass, wenn die von den Eiweisskörpern mit Silbernitrat gebildeten Verbindungen in Gegenwart von Salpetersäure der Reduktion durch Licht fähig wären, es nutzlos wäre zu versuchen, mit dem Reagens die Verteilung der Chloride in tierischen und pflanzlichen Zellen zu bestimmen.

Macallum (175) hat gezeigt, dass chloridfreie Proteine und Gelatine keine solchen farbigen Reduktionsprodukte in Gegenwart von Salpetersäure geben. Zu diesem Zweck war es notwendig, Eiereiweiss und Globulin aus der Lösung mit absolut chloridfreiem Ammoniumsulfat mindestens siebenmal zu fällen. Um die vollständige Entfernung der Chloride bei dieser Zahl von Fällungen zu bewirken, muss man die Lösung, ehe jede Fällung zustande kommt, 10 bis 12 Stunden stehen lassen, denn wenn jeder Lösung ein paar Minuten später eine Fällung folgt, enthält der Niederschlag noch nach dem dreissigsten Mal Chloride. Macallum erklärt dieses Resultat als von der Gegenwart von Chlornatrium im Innern der ultramikroskopischen Partikelchen der Eiweisskörper stammend, welches nur langsam in das Medium diffundiert, in welchem die Partikelchen suspendiert sind. Dass es die Chloride und nicht organische Verbindungen sind, welche für die Silberreaktion in den Eiweisskörpern verantwortlich sind, wurde bewiesen, indem man das Filtrat aus den vier ersten Niederschlägen konzentrierte, indem man das gebildete

[1]) Es ist die Frage, ob das Resultat bei manchen von ihnen nicht von der Gegenwart kleiner Spuren von NaCl in dem benutzten Stoff herrührte. Es ist schwierig, diese Extraktivstoffe vollkommen zu reinigen.

kristallisierte Ammoniumsulfat entfernt, Silbernitrat zusetzt, den nicht reduzierten Niederschlag trennt, ihn bei 120° C trocknet, wiegt, dann vollkommen glüht und wieder wiegt, wobei gefunden wird, dass er in Wirklichkeit keinen Gewichtsverlust erlitten hat. Mit denselben Trennungsmethoden, wobei er aber chloridfreies, wasserfreies Natriumsulfat benutzte, reinigte er Mengen von im Handel käuflicher Gelatine und fand, dass ihre Verbindung mit Silber keine gefärbten Reduktionsprodukte in Gegenwart von Salpetersäure gibt.

Es ist nicht, wenigstens nicht direkt, bestimmt worden, ob Nukleinverbindungen mit Silbersalz eine reduzierbare Verbindung erzeugen, aber der Verf. fand, dass das Nukleoprotein des Pankreas negative Resultate gibt. Da die Nukleinverbindungen verschiedener Herkunft untereinander differieren, besonders in den vorhandenen Pyrimidinderivaten, kann keine allgemeine, auf dieses negative Resultat gegründete Behauptung aufgestellt werden, besonders da der Verf. gefunden hat, dass das Kernmaterial in den Testikularzellen des Oniscus eine helle gelbbraune Reaktion mit dem Reagens gegeben hat.

Man kann daher Proteine und Gelatine ausser acht lassen und ebenso Sulfozyan und Zyanursäuren, ebenso Taurin, Alloxan und Alloxantin, da sie, wenn überhaupt vorhanden, es in unendlich kleinen Mengen sind. Kreatin ist der einzige wichtige Bestandteil der Gewebe, mit welchem Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure eine farbige Reduktionsverbindung gibt, gleich derjenigen von dem Haloidchlor erzeugten[1]). Dies bildet jedoch nur eine Schwierigkeit bei der Muskelfaser der Wirbeltiere, wo es bis zu 4% vorkommen kann (Nawrocki [109]), bei Wirbellosen und in pflanzlichen Geweben fehlt es vollkommen.

Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure ist deshalb ein ausserordentlich zuverlässiges Reagens für Chloride, indem es Silberchlorid bildet, welches unter der Wirkung von Licht Subchlorid wird. Der reduzierte Teil ist, wie Carey Lea gezeigt hat, nicht mehr als 1% und dieser verbindet sich mit einem Teil des nicht reduzierten Materiales, insgesamt nicht mehr als 8%. Infolgedessen werden weniger als 10% von der Reduktion affiziert und diese dienen dazu, das vorhandene Chlorid aufzudecken. Dass sie das in beachtenswertem Grade tun, wird durch die Tatsache gezeigt, dass sie dem blossen Auge das Vorhandensein des Chlorids im Reagensglas zeigen, wenn das Chlor nur 1 in 1600000 ist.

Nach Kohlrausch und Rose[2]) sind 1,7 Teile Silberchlorid in 10 000000 Wasser bei 18° C löslich, d. h. 1 Teil Chlor als AgCl in 2380000. Da das

[1]) Henze (164) hat gefunden, dass Kreatin im Muskel des Octopus fehlt, aber Taurin bis zu 0,5% vorhanden ist.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. Vol. 12. p. 241.

Subchlorid viel unlöslicher als das Chlorid ist, macht das reduzierende Vermögen des Lichts die Reaktion zu einer ausserordentlich empfindlichen. Der Verf. war imstande, unter dem Mikroskop Subchloridpartikelchen zu sehen, wenn das Chlor des Chlorids in der Lösung 1 auf 3000000 war.

Mit Hilfe dieses Reagens, welches aus einer dezinormalen Nitratlösung bestand und 1,5% Salpetersäure enthielt, stellte Macallum fest:

1. dass intrazelluläres Material, die sogenannte Kittsubstanz von von Recklinghausen mit inbegriffen, und alle Strukturen mit trägem Charakter, welche in oder bei kleinen Lymphgängen oder in intrazellulären Räumen liegen, reich an Chloriden sind. Die Prävalenz der Chloride in der Kittsubstanz, verglichen mit dem intrazellulären Inhalt in z. B. den endothelialen Zellen der Blutgefässe oder in der Peritoneumhaut und in den Epithelzellen der Darmschleimhaut, stammt von der Tätigkeit des Zytoplasmas einerseits, welches auch immer diese Tätigkeit sein mag, und von den physikalischen Kräften der Imbibition, welche ohne Hinderung in der sogenannten Kittsubstanz wirken, welche nur der trägste Teil der Zellen ist. Es sind die Chloride in dem trägen Material in den Wänden der Lymphräume der Kornea, welche die Reaktion geben, welche von solchem Wert gewesen ist, um das Vorkommen dieser Kanäle und Zwischenräume aufzudecken. Zelluläre Strukturen, welche in den trägen oder degenerierten Zustand übergehen, geben ebenso wie diejenigen, welche vollkommen degeneriert sind, wie z. B. die keratogenen und die verhornten Elemente in der Epidermis, eine entschiedene Reaktion für Chloride.

2. Die Kerne der tierischen und pflanzlichen Zellen sind in ihrem normalen Zustand frei von Chloriden. Das Fehlen einer Kernreaktion nach Behandlung mit Silbernitrat — selbst in neutraler Lösung — wurde schon von mehreren früheren Forschern beobachtet (Auerbach [146], Tillmann [201], Golubew [155], Schwalbe [194], Ranvier [186], Legros [172] und Schweigger-Seidel [196]). His (166) betont wiederholt, dass die Kerne, da farblos, in Silberpräparaten schwer erkennbar sind; doch werden sie sichtbar, wenn die Präparate, ehe man sie in das Silberreagens taucht, eine Zeitlang mit Natriumchloridlösung behandelt werden; dann wirken die Kerne wie reduziertes Silber. Er macht auch darauf aufmerksam, dass in von Recklinghausens Abbildungen die Kerne in der Reaktion nicht erkennbar waren. Nur Flesch (151) und Fromann (150) erhielten eine Kernreaktion, der eine in den Knorpelzellen, indem er das ganze mit einer schwachen neutralen Lösung des Reagens behandelt, der andere in Nervenzellen in kleinen Mengen von Nervengewebe, welches durch lange Zeit im Reagens gehalten und ganz davon durchtränkt wurde; das Resultat war, dass der Kern, ehe das Reagens ihn erreichte, sich wesentlich verändert und Chloride absorbiert hatte. Bei Fleschs Präparaten müssen die Knorpelzellen sich verändert haben, ehe das Reagens sie erreicht, und ihre Kerne

würden auf diese Weise das Eindringen von NaCl zulassen. Tillmann gelang es nicht, die Reaktion in den Kernen der Knorpelzellen zu erhalten.

Dass die Kernmembran unter gewissen Bedingungen das Eindringen von Silbersalz ermöglicht, wird durch die Tatsache klar, dass in den sogenannten positiven Silberbildern es nicht ungewöhnlich ist, die Reaktion in den Kernen zu erhalten und infolgedessen ist das Fehlen einer Reaktion in normalen Kernen entscheidend in bezug auf ihr Freisein von Chloriden. In solchen Kernen, bei welchen man findet, dass sie hie und da eine Reaktion geben, müssen pathologische Bedingungen vorherrschen und bei solchen, welche normal sind und welche gleichzeitig die Reaktion geben, wie z. B. die Testikularzellen des Oniscus, stammt das Resultat nicht von den Chloriden, sondern von irgend welchen Derivaten der Kernsubstanzen unbekannter Natur. Die Beispiele dieser Art sind jedoch gering [1]).

Das Fehlen einer Chloridreaktion besteht auch im Kopf der Spermatozoen (Oniscus, Bachkrebs, Frosch, Meerschweinchen, Ratte, Kaninchen und Mensch). Hier greift das Reagens direkt an und dringt selbst in den Kopf ein, aber, obgleich man eine tiefe Reaktion in dem Medium, in welchem sich die Spermatozoen bewegen, erhalten kann, bleiben doch die Köpfe vollkommen farblos. Die Membran selbst gibt keine Reaktion, obgleich hie und da dunkelbraune Partikelchen des Subchlorides auf der äusseren Oberfläche niedergeschlagen oder daran haftend vorkommen können.

Dieses Freisein des Kopfes der Spermatozoen ist das, was man aus der Tatsache erwarten sollte, dass es der verwandelte Kern einer Samenzelle ist, und es wäre eben aus dieser Tatsache unerklärlich, wenn der Kopf der Spermatozoen Chloriden enthielte.

In Mieschers Analysen der Köpfe der Spermatozoen des Lachses wird das Vorhandensein des Chlors, welches 34,82 % der Asche der Flüssigkeit ausmacht, nicht erwähnt. Das Fehlen der Chloride in der Kopfsubstanz folgt aus der Tatsache, dass in dem wiederholt daraus gemachten Salzsäureextrakt nach Entfernung des Protamins aus der Lösung kein Kalium gefunden wurde, denn in diesem Punkte ist festgestellt worden, dass „die konzentrierten klaren gelblichen Flüssigkeiten mit Platinchlorid auch nach Zusatz von Alkohol keinen Niederschlag mehr geben, also protaminfrei sind". Da Kalium 10,37 % der ganzen Asche des flüssigen Teiles des Samens ausmacht, so bedeutet auch sein Fehlen in den Köpfen das Fehlen der Chloride.

Es ist im ganzen vielleicht leichter das Fehlen der Chloride in den Kernen der Pflanzenzellen nachzuweisen (Spirogyra, Zygnema, Tulipa, Lilium). In den mesophyllen Zellen der Tulipa sind die Kerne oft an

[1]) Diese und manche der auf den nächsten Seiten folgenden Beobachtungen werden jetzt zum ersten Male veröffentlicht. Ein ausführlicher Bericht darüber wird demnächst erscheinen.

einer Seite der Zelle und daher sehr leicht empfänglich für das Reagens, welches sie jedoch unbeeinflusst lässt.

Obgleich die Kerne in tierischen und pflanzlichen Zellen frei von Chloriden sind, ist es das Zytoplasma nur gelegentlich. In allen untersuchten Pflanzenzellen ist das Zytoplasma mehr oder weniger mit Chloriden imprägniert, aber die Chlorophyllkörperchen scheinen davon frei zu sein (Tulipa) und ebenso verhält sich das Chromatophor bei Spirogyra und Zygnema. In den beiden letztgenannten Arten und besonders in der ersten von beiden scheinen die Chloride in der protoplasmatischen Schicht sogleich innerhalb der Zellulosewand oder Membran konzentriert zu sein.

In tierischen Zellen gibt das Zytoplasma die Reaktion, obgleich nicht gleichmässig, und in manchen Fällen, wie z. B. in den Magendrüsen des Frosches, wurden keine gefunden, obgleich Chloride in ihrem Lumen vorhanden waren. Andererseits geben die Seitenzellen der Verdauungskanäle beim Kaninchen und Meerschweinchen in ihrem Zytoplasma eine deutliche Reaktion für Chloride, was diese Zellen im Verlauf der Kanäle kennzeichnet. Dasselbe wurde auch von M. Greenwood (158) beobachtet, welche fand, dass die Belegzellen im Vergleich zu den Hauptzellen in den Magendrüsen des Schweines eine starke Reaktion mit Silbernitrat gaben und sie schloss daraus, dass diese Zellen die Salzsäure des Magensaftes verfertigen, einen Schluss, welchen Sehrwald (197) unterstützt. Er fand, dass, wenn Schnitte von frischer Magenschleimhaut in eine Mischung von Eisenlaktat und Ferrocyankalium gelegt werden, eine blaue Reaktion nur in den Belegzellen erschien, welche man folglich als freie Säure haltig ansehen muss.

In den Pankreaszellen des Meerschweinchens sind die Chloride reichlich in der Granulazone des Zytoplasma und spärlich in der protoplasmatischen Gegend. Da Kalium in der Granulazone gefunden wurde, ist es wahrscheinlich, dass es dort als ein Chlorid gebunden ist.

In den Nervenfasern ist die zu erzielende Chloridreaktion, wie die Untersuchungen von Macallum und Menten (176) zeigen, von bemerkenswerter Art. Erstens ist es eine ausgesprochene, was besagt, dass Chlorid oder Chloride reichlich vorhanden sind und in solcher Menge um bis zu einem gewissen Umfang von mikrochemischer Seite her, die von Macdonald (106) auf Grund der Leitfähigkeit der Nervenfasern gemachte Schätzung, dass der Kaliumchloridgehalt des Achsenzylinders ungefähr 2,6% ist, zu rechtfertigen. In markhaltigen Nervenfasern der Rückenmarksnerven erscheint diese Reaktion gewöhnlich nur an den Ranvierschen Knoten und in dem Teil des Axons direkt in ihrer Nachbarschaft, und alles dieses einfach nur, weil der Punkt des Eindringens gewöhnlich an den Knoten ist; aber in den markhaltigen Nervenfasern des Rückenmarkes, welche, wie bekannt, keine Neurilemmscheide und daher keine Ranvierschen Knoten haben, erscheint die Chloridreaktion, gewöhnlich von starkem Charakter, in grossen Ausdehnungen des Axons.

Zweitens erzeugen das Chlorid oder die Chloride in dem Axon, obgleich sie gleichmässig verteilt sind, mit Silbernitrat keinen gleichmässig verbreiteten Niederschlag, sondern in Zonen so ausserordentlich nahe beisammen an den Knoten (Streifen), so dass es scheint, als ob sie eine beständige schwarze Säule dort bildeten, aber sie entfernen sich mehr und mehr voneinander und werden weniger stark, obgleich breiter, wenn die Reaktion entlang des Axons vom Knoten aus fortschreitet, bis schliesslich an einem vom Knoten entfernten Punkte die Reaktion so schwach ist, dass sie nicht mehr sichtbar ist, oder sie überhaupt nicht eintritt.

Diese Zonen sind die Frommannschen Linien und wie Macallum und Menten gezeigt haben, bezeichnen sie weder eine zonenmässige Verteilung der Chloride im Axon, noch liefern sie den Beweis irgend einer strukturellen Streifung in den Fasern, sondern sie sind vielmehr das Resultat eines physikalischen Vorganges, welcher in gleicher Weise in mit Eiereiweiss gefüllten Kapillarglasröhren, welche Natriumchlorid in Lösung enthalten und für einige Stunden in das Reagens gebracht und dann dem Licht ausgesetzt werden, wirkt. Hier sind die gebildeten Streifen, wie bei den markhaltigen Nervenfasern, an den Eintrittspunkten des Reagens, an den Enden der Kapillarröhre, ausserordentlich nahe zusammen, fast verschmolzen, aber da die Reaktion von jedem Ende aus entlang der Röhre geht, werden die Niederschlagszonen, denn das sind die Streifen, breiter, weniger deutlich und weniger bestimmt und zugleich weiter voneinander entfernt, je entfernter sie von den offenen Enden der Kapillarröhre sind.

Diese Art des Niederschlages wurde zuerst, abgesehen von den Nervenfasern, von Boehm im Jahre 1886 beobachtet, der damals Assistent in Boveris Laboratorium war und letzterer (147), welcher die Resultate von Boehms derartigen Versuchen mit Kapillarröhren erklärte, wandte die Resultate an, um die Resultate der Frommannschen Linien zu erklären. In letzter Zeit hat Liesegang (173) die fragliche physikalische Eigenschaft wieder entdeckt und hat auch gezeigt, dass sie demonstriert werden kann, wenn ein Tropfen Silbernitratlösung in Kontakt mit Films oder mit Kaliumbichromat imprägnierten Gelatinsäulen gebracht wird; indem das Silbersalz, während es sich langsam und konzentrisch mit dem Tropfen in einem immer wachsenden kreisförmigen Areal verbreitet, einen in Ringen abgelagerten Silberchromatniederschlag bildet, auch ganz konzentrisch, jedes von seinem Nachbar auf beiden Seiten durch klare Zonen, welche frei oder fast frei von Silberchromatniederschlag sind, getrennt. Diese Zonen nehmen an Umfang von der Mitte nach der Peripherie hin zu, aber zu gleicher Zeit werden sie weniger stark und jedes weiter von seinem Nachbar auf jeder Seite getrennt.

Ostwald (181, 182, 183) hat für diese Ringe die Erklärung gegeben, dass bei der Diffusion des Silbersalzes und der daraus folgenden Bildung von Silberchromat der metastabile und labile Zustand der Lösung von letzterem

Salz abwechselnd vorherrscht, die metastabile Phase, wenn es sich zum höchsten Grad der Übersättigung entwickelt, der existiert, der labile Zustand, wenn es durch einen Teil des Gelatinefilms oder der Gelatinesäule diffundiert, um eine klare oder streifenfreie Zone zu bilden. Wenn die kritische Konzentration in der vorwärtsschreitenden Lösung erreicht ist, fängt der Niederschlag an und geht weiter, indem er so einen Streifen bildet, bis die Lösung wieder zu dem metastabilen Zustand zurückgebracht ist, wobei aus der vorwärtsschreitenden Lösung ein neuer labiler Zustand hervorgeht und wie vorher eine neue streifenfreie Zone und neue Streifen auftreten. Der Vorgang wiederholt sich unbegrenzt so lange wie die Diffusion vor sich geht, aber das Silbersalz wird immer verdünnter, die kritische Konzentration wird immer später erreicht, und infolgedessen werden die neuen Streifen voneinander durch immer breitere streifenfreie Zwischenräume getrennt. Ferner müssen die Streifen, obgleich das nicht in Ostwalds Erklärungen mit eingeschlossen ist, aus denselben Gründen breiter werden und weniger deutlich in seiner Dichtigkeit, bis sie schliesslich nicht mehr so deutlich sind, um erkennbar zu sein.

Diese Erklärung des Boehm-Liesegangschen Phänomens ist von Morse und Pierce (179) und von Hausmann (162), welche es experimentell erforscht haben, angenommen worden.

Macallum und Menten untersuchten den Vorgang, wie er sich in Eiweiss- und Gelatinelösungen in Kapillarröhren abspielt, und sie fanden, dass alle Eigenschaften des Frommannschen Streifens in den Kapillarröhren beobachtet werden können und sie stellten auch fest, dass wenn die Menge des Chlornatriums in der Lösung variiert, eine Konzentration von 3,168% und mehr keine Streifen mit $\frac{N}{10}$ Silbernitratlösung, in welcher 1,5% Salpetersäure war, gab, und Konzentrationen von geringerem Grad als 2,016%, erzeugten selten Streifungen und dann nur an den Enden der Kapillarröhren. Das ist deswegen von Interesse, weil 2,6% Kaliumchlorid, welche Macdonald in den Axonen der Nervenfasern feststellt, ungefähr 2,04% NaCl entsprechen würde.

Die von Ostwald gegebene Erklärung genügt vollständig, wenn sie auf die Nervenfasern angewandt wird. Das Neurilemm und selbst die Markscheide nehmen die Stelle des Glases in der Kapillarröhre ein, nur mit dem Unterschied, dass jeder Schnitt eines Neurilemms, der zwischen zwei Ranvierschen Knoten liegt, eine teilweise an den Knoten offene Kapillarröhre bildet, und daher eine sehr grosse Anzahl solcher Kapillarröhren längs einer einzigen Nervenfaser sein können. Wenn man das Silbernitrat eine Nervenfaser angreifen lässt, dringt das Reagens an den Knoten ein, da wo es eine gewisse Diffusion des Chlorids nach aussen gibt, und infolgedessen wird der ringförmige Knoten deutlich mit Silberchlorid imprägniert. Das

Eindringen geht entlang des Axons in jeder Richtung weiter und die Frommannschen Linien werden erzeugt, oder es geht, mit anderen Worten, das Boehm-Liesegangsche Phänomen daraus hervor.

Sehr selten nur erhielten Macallum und Menten eine Reaktion für Chloride in der Markscheide und dann hauptsächlich bei den Lautermanschen Einkerbungen, eine Tatsache, welche zeigt, dass diese neben den Knoten die einzigen schwachen Stellen in bezug auf Impermeabilität in der Scheide der Nervenfaser sind. Auch in den Nervenfasern des Hummers fanden diese Forscher die Frommannschen Streifen, aber, da darin keine Ranvierschen Knoten sind, konnte das Reagens nur an den Schnittenden der Fasern eindringen.

Es ist klar, dass die Chloride reichlich im Axon sich befinden und gleichmässig entlang seines Verlaufes verteilt sind. Es ist auch klar, dass die Menge der Chloride nur durch den Widerstand gegen die Diffusion, welchen das Neurilemm und die Markscheide bieten, aufrecht erhalten wird. Die Tatsache, dass Chloride viel reichlicher im Axon als ausserhalb der Faser vorhanden sind, würde zu zeigen scheinen, dass sie nicht von aussen kommen können und die einzige Ursprungsstelle, welche übrig bleibt, wäre die Nervenzelle, aus welcher das Axon auswächst. Die Schwierigkeit ist die, dass in der Nervenzelle die Chloride nicht reichlich sind und in ihrem Zytoplasma kein Kalium gefunden worden ist (Macallum und Menten (176). Ist es möglich, dass das Zytoplasma der Nervenzelle alles Kalium, das dieselbe erreicht, in das Axon treibt und damit verbunden so viel Halogenchlor als notwendig ist?

Gerade die Tatsachen, dass es keine Membran für den Zellkörper gibt und dass sein Zytoplasma von kleinen Kanälen in Verbindung mit den Lymphgängen, welche die Zellen umgeben, durchdrungen ist, während das Axon von einer für organische Salze fast undurchlässigen Membran bedeckt ist, sind für einen Unterschied in der anorganischen Zusammensetzung bezeichnend. Sie lassen ferner vermuten, dass, während die Genese eines Nervenimpulses nicht notwendigerweise von einem anorganischen Stoff in dem Zytoplasma einer Nervenzelle abhängen muss, seine Fortpflanzung entlang des Axons in irgend welcher fundamentaler Weise mit den darin enthaltenen Chloriden verknüpft sei.

Es ist wahrscheinlich, dass die Membrane selbst an den Ranvierschen Knoten unter den gewöhnlichen, im normalen Gewebe vorherrschenden Bedingungen für anorganische und andere Salze in Lösung in Lymphe undurchlässig sind, und dass nur, wenn Reagentien, wie Silbernitrat, benutzt werden, welche wahrscheinlich den Kittstoff, welcher die Neurilemmsegmente an den Knoten verbindet, verändern, diese Undurchlässigkeit verringert oder gestört wird.

Was diese Impermeabilität, sowie die der Kernmembran, in sich schliesst, wird im Schlussabschnitt dieses Aufsatzes besprochen werden.

Der jetzt hervorzuhebende Punkt, als eine Verallgemeinerung der vorangehenden Tatsachen, ist der, dass Chlorhalogen, welches bei weitem das am reichlichsten vorhandene Element in den zirkulierenden Flüssigkeiten ist, nicht gleichmässig in den Zellen verteilt und von dem Zellkern, dem an manchen der wichtigsten vitalen Prozesse des Zelllebens beteiligten Organ, ausgeschlossen ist.

VII. Der Nachweis und die Lokalisation des Phosphors durch mikrochemische Methoden.

Phosphor existiert wie Eisen in zwei Zuständen in den lebenden Zellen und Geweben. In einem ist er anorganisch und entweder in Gestalt von Orthophosphat oder leicht dazu verwandelbar. In dem anderen Zustand kommt er in der einen oder anderen Art der Verbindung vor, in welcher der Phosphor nicht so leicht nachgewiesen werden kann, wie es bei den anorganischen Verbindungen der Fall ist und seine Gegenwart wird nur offenbart, wenn er durch kräftige chemische Wirkung in Phosphorsäure verwandelt wird. Die chemische Wirkung muss in manchen Fällen bis zur Verbrennung der Verbindung vorgehen, bis der Phosphor in einer erforschbaren Form frei gemacht wird.

Die zweite Klasse der Phosphorverbindungen kann auch organisch und „maskiert" genannt werden, und wie in maskierten Eisenverbindungen, bei welchen das Eisen in jedem Falle verschieden in dem es enthaltenden Molekül gebunden ist, ebenso scheint es in den maskierten Phosphorverbindungen eine Varietät der Verbindungsarten zu geben, mehr oder weniger voneinander verschieden, weshalb sie der Freimachung des Phosphors zu einer anorganischen Form einen verschiedenen Grad von Widerstand entgegenstellen.

Die Bestimmung der Verteilung beider Arten von Phosphorverbindungen in Zellen und Geweben ist von Jolly (213), Lilienfeld und Monti (219) und Macallum (220) vermittelst des Salpetersäuremolybdänreagens versucht worden. Erstgenannter verliess sich auf die von den Geweben durch das Reagens gegebene gelbe Farbe, als ein Zeichen für das Vorhandensein von Phosphorsäure; da aber die Salpetersäure des Reagens die gelbliche Xanthoproteinreaktion in Gewebsschnitten und Präparaten gibt, wie sie es mit Eiweisslösungen im Reagensrohr tut, kann die Farbe kaum als ein befriedigender Beweis angesehen werden. Ferner ist es nicht sicher, dass unter den in einem Gewebe, einem frischen oder fixierten, herrschenden Bedingungen

die gebildete Phosphormolybdän-Verbindung immer nur von der „gelben" Varietät ist.

Um über die Schwierigkeit hinwegzukommen, geringe Spuren von Phosphorsäure zu entdecken, benutzten Lilienfeld und Monti Pyrogallol, um den Molybdänteil der Verbindung auf den Zustand eines niedrigeren Oxyds zu reduzieren, nachdem sie durch Waschen des Präparats in Wasser geglaubt hatten, dass es ihnen gelungen sei, das ungebundene Ammoniummolybdän aus dem Gewebe entfernt zu haben. Die Menge der vorhandenen Phosphorsäure schätzten sie nach der Tiefe der Reaktion, welche von einem Gelb oder Braun bis zu einer schwarzen Farbe variierte. Mit dieser Reaktion untersuchten sie tierische und pflanzliche Gewebe und fanden Phosphate und organische Phosphorverbindungen weit, fast allgemein, verbreitet.

Raçiborski (232) zeigte, dass die Pyrogallolreaktion mit Ammonium-Phosphormolybdän eine grüne ist, während die nur von Ammoniummolybdän erzeugte eine braune ist, und ferner, dass da, wo Phosphatkristalle in Pflanzenpräparaten, wie bei Euphorbia, vorhanden waren, die Reaktion grün war, Heine (210) konnte die Beobachtungen Raçiborskis in bezug auf die Wirkung von Pyrogallol nicht bestätigen, sondern er fand, dass, wenn Chloride als ein reduzierendes Agens benutzt werden, die Reduktionsprodukte fast unveränderlich blau sind, welches in manchen Fällen in ein schmutziges Grün überging. Pollacci (229) benutzte auch Zinnchlorid, um das Phosphormolybdän zu reduzieren, nachdem er die Präparate gründlich gewaschen hatte, um das ungebundene Ammoniummolybdän zu entfernen, und die daraus hervorgehende Reduktionsverbindung war unveränderlich blau.

Macallum (220) bestätigte Raçiborskis Beobachtungen in bezug auf die Farbe des Reduktionsproduktes, welches aus der Anwendung des Pyrogallols resultiert und verwarf infolgedessen alle Beobachtungen von Lilienfeld und Monti über die Verteilung des Phosphors in Zellen. Er zeigte, dass Pyrogallol in Lösung, mit Sauerstoff verbunden, allmählich dunkler wird und dass es diese Verbindung ist, welche in zellulären Strukturen absorbiert wird, die eine Avidität für Farben haben, und deshalb kann die dunkle Färbung in Zellelementen vorkommen, in welchen die Phosphormolybdänreaktion nicht entwickelt ist.

Eine andere Fehlerquelle in Lilienfeld und Montis Methode, ebenso wie in der Pollaccis, ist die Unmöglichkeit, nur durch Waschen das ungebundene Ammoniummolybdän aus den Geweben, auf welchen man es eine Zeitlang wirken liess, zu entfernen. Darauf wies auch Heine hin und bekräftigte es durch die Resultate eines Versuches an einer Menge von Histon, welche frei von Phosphorverbindungen war, welche nach Behandlung mit dem Salpetermolybdänreagens, auf die sehr häufiges Waschen folgte, zuletzt reichlichen Beweis für das Vorhandensein von Ammoniummolybdat gab.

Deshalb genügt Waschen nicht, um das ungebundene Molybdän zu ent-

fernen. Zinnchlorid, das von Polacci benutzte reduzierende Agens, reduziert sowohl das ungebundene Molybdän, als auch das Phosphormolybdän, und die vom Pyrogallol herstammenden und von den Geweben absorbierten Oxidationsprodukte verdecken, wie sie es in den Präparaten von Lilienfeld und Monti taten, das Vorkommen des mit Phosphorsäure verbundenen Teiles des Molybdäns. Der Wunsch war, einmal eine Methode zu finden, vermittelst welcher das nicht kristallisierte Phosphomolybdän unter dem Mikroskop und selbst in Gegenwart des ungebundenen Molybdän gezeigt werden konnte.

Macallum behauptete, man könne das durch den Gebrauch von salzsaurem Phenylhydrazin erreichen, das in dem Reagenzglas die sonderbare Eigenschaft hat, die Molybdänverbindung auf eines der weniger gefärbten Oxyde in Gegenwart von Phosphorsäure oder Phosphaten zu reduzieren, aber welches in Gegenwart von Salpetersäure keine Wirkung auf Ammoniummolybdän allein hat. Er betonte, dass diese Bestimmungsart keine unfehlbare ist, denn in Gegenwart von ätzenden Alkalien und von Alkohol bringt die Phenylhydrazinverbindung unter gewissen Umständen die Erzeugung des blauen Oxyds hervor und dass es notwendig ist, diese und andere Verbindungen zu entfernen, welche Irrtümer in den Untersuchungen herbeiführen können.

Indem Macallum die Methode anwandte, behandelte er frisches Material und Präparate, gewöhnlich Schnitte von in Alkohol gehärtetem Stoff, mit einer leichten Modifikation der Freseniusschen Lösung des Salpetersäuremolybdänreagens. Diese wurde hergestellt, indem man 1 Teil Molybdänanhydrid in 4 Gewichtsteile von 0,88 sp. Gr. Ammoniak auflöste, und zur filtrierten Lösung 15 Teilen 1,2 sp. Gr. Salpetersäure zusetzte. Diese Präparate liess man eine Zeitlang, welche mit dem Charakter des Präparats variierte, aber gewöhnlich 24 Stunden, bei einer Temperatur von nicht mehr als 35° C in dem Reagens liegen. Sie wurden dann entweder direkt oder nach Waschen mit verdünnter Salpetersäure oder Wasser in eine frisch bereitete 1—4% salzsaure Phenylhydrazinlösung gebracht, welche das Phosphormolybdän reduziert, wo es auch immer im Präparat vorkommt, und die resultierende grünlich-blaue Verbindung bezeichnet die Verteilung des organischen und anorganischen Phosphors.

Dank der Vorherrschaft des Lezithins überall in den Geweben war es notwendig, ehe sie nach dieser Methode behandelt wurden, durch Extraktion mit Alkohol alle Spuren davon aus den Geweben zu entfernen, um ein genaues Bild von der Verteilung der zurückbleibenden Phosphorverbindungen zu erhalten.

Um nun die Verteilung der Phosphate in einem Gewebe zu bestimmen, wurden die Präparate davon der Wirkung des Salpetersäuremolybdänreagens für nicht länger als 10 Minuten unterworfen, worauf sie mit der reduzierenden

Lösung behandelt wurden. Um sich über die Verteilung der anorganischen und organischen Phosphorverbindungen in ihrer Beziehung zueinander zu vergewissern, wurden die auf diese Weise erhaltenen Präparate mit anderen aus demselben Material oder Organen verglichen, aber während einer längeren Zeit (24) der Wirkung der Salpetersäuremolybdänflüssigkeit unterworfen.

Die Präparate wurden, nachdem sie, um sie von dem Reagens und der reduzierenden Flüssigkeit zu befreien, gewaschen waren, entwässert, in Zedernöl gereinigt und in Balsam eingebettet.

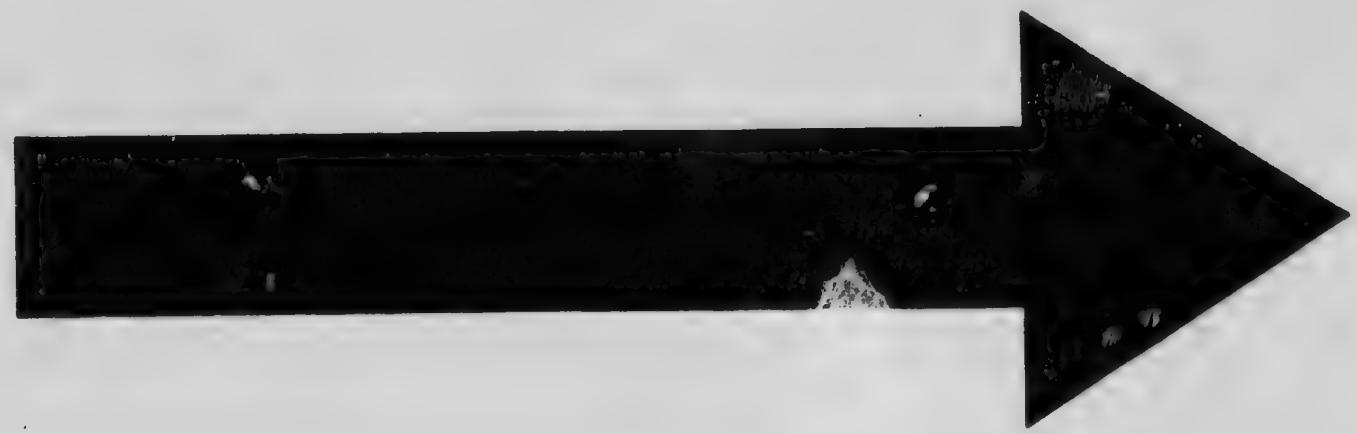
Als ein Ergebnis der Anwendung dieser Methode fand man, dass Chromatin überall eine tiefe Reaktion für Phosphor gibt. Das Chromatin der mitotischen Chromosomen gab in sich teilenden tierischen und pflanzlichen Zellen keine ausgesprochenere Reaktion für Phosphor als das Kernchromatin und dies wurde als ein Widerspruch gegen Lilienfelds Ansicht befunden, dass die Chromosomen während der Mitose nur aus reiner Nukleinsäure zusammengesetzt sind, denn der Phosphor in der Nukleinsäure erreicht 9—10%, während er in den Nukleinen (Chromatin) nur 3—4% ist

Nukleolen der eosinophilen Art gaben in tierischen und pflanzlichen Zellen die Reaktion nur weniger entschieden als das Chromatin. Die nukleären Elemente des Eierstocks von Erythronium, welche reich an maskiertem Eisen sind, geben eine tiefe Reaktion für Phosphor, so wie es auch die Nukleolen im Embryosack in derselben Form tun, die peripheren Nukleolen in den reifenden Eierstockseiern bei Menobranchus, die Nukleolen von Corallorhiza multiflora und von Spirogyra, die alle reich an maskiertem Eisen sind.

Der im Zytoplasma der verschiedenen Zellen gefundene organische Phosphor ist gewöhnlich gering an Menge. In dem Kerngewebe und in den Bastzellen von Erythronium wurde eine tiefere Reaktion, von welcher man glaubt, dass sie vom Chromatin herrührt, im Zytoplasma erhalten. Andere Ausnahmen wurden in den Pankreaszellen, Leberzellen, Nervenzellen, quergestreiften Muskelfasern, in reifenden und reifen Eierstockseiern der Amphibien und in den Spermatozoen der Ascaris gefunden.

In den sich teilenden Zellen gibt die achromatische Spindel keine Reaktion für Phosphor, noch wird eine solche in der Zentrosphäre und in dem Zentrosomen in tierischen und pflanzlichen Zellen gefunden.

Die Zymogengranula im Pankreas der Amphibien (Diemyctylus), aus welchen das Lezithin extrahiert worden ist, gaben eine tiefe Reaktion für Phosphor nach 18stündiger Behandlung mit dem Reagens. Das Prozymogen in denselben Zellen gab auch eine deutliche Reaktion und eine solche wurde im Zytoplasma unter den Granula, genauer in der unmittelbaren Nähe des Lumen, erhalten, von welcher angenommen wurde, dass es von dem für seinen Durchtritt durch das Lumen der Röhre präparatorisch aufgelösten Zymogen herrühre.



Eine langsam eintretende, diffuse Reaktion für Phosphor wurde im Zytoplasma der Leberzellen vom Hund und Menschen erhalten.

In den Muskelfasern der Amphibien gibt der trübe Streifen die Reaktion und er und die die Dobiesche Linie (Krauses Membran) bildenden Granula in der Muskelfaser der Crustacaen scheinen phosphorhaltig zu sein.

In dem Hyalinknorpel des Frosches und des Menobranchus sind anorganische Phosphate in der Matrix vorhanden. Die Reaktion erscheint in manchen Fällen in Zonen um Gruppen von Knorpelzellen, wobei die Zonen voneinander durch schmälere Streifen, in welchen keine Phosphatreaktion erhalten wurde, getrennt sind.

Im reifenden und reifen Eierstockei der Amphibien ist das Cytoplasma reich an organischem Phosphor, obgleich nicht so sehr wie im Kern. Die Dotterkügelchen geben die Reaktion.

Der runde Körper im Kopf des Spermatozoids des Ascaris, der ein Kern genannt worden ist, reagiert deutlich auf Phosphor, während es scheint, dass das Cytoplasma nur Spuren des Elementes enthält.

Die Plazentargewebe sind reich an Phosphaten, besonders die der Katze. Die Kolloidkörper der Schilddrüse enthalten auch organischen Phosphor, aber dieser ist nicht in einem Nukleo-Protein enthalten. Der äussere Teil der Stäbchen und Zapfen bei Amphibien ist reich an Phosphor, noch mehr die Stäbchen, aber nicht in jeder Struktur rührt die Reaktion vom Lecithin oder anorganischen Verbindungen her.

Bei Spirogyra wurde eine schwache Reaktion im Chromatophor erhalten, eine etwas stärkere in den Pyrenoiden. Die letzteren Strukturen reagierten ähnlich bei Cedogonium und Cladophora. Bei den Cyanophycaen gab der „Mittelkörper" die Reaktion immer sehr deutlich, ebenso wie die eisenhaltigen, chromatinähnlichen Granula, welche im „Mittelkörper" oder in seiner unmittelbaren Peripherie bei Tolypothrix und Oscillaria gefunden wurden. Nur gelegentlich zeigten die sogenannten Cyanophyzingranula das Vorhandensein des Phosphors darin. Diese Beobachtungen wurden von Wager (237) bestätigt.

Bei Saccharomyces Ludwigii gibt das Cytoplasma eine diffuse Reaktion für organischen Phosphor. Die Struktur in diesen Organismen, welche von vielen Forschern als ein Kern angesehen worden ist, gab auch die Reaktion in bemerkenswertem Grad.

Bei Beggiatoa, einer Schwefelbakterie, wurde eine Reaktion für organischen Phosphor im ganzen Cytoplasma und auch in den Granula erhalten, bei welchen man fand, dass sie sich mit Hämatoxylin färbten und maskiertes Eisen enthielten (Macallum (48). Bei Saccharomyces entstand die Reaktion durch den durch das ganze Cytoplasma verbreiteten chromatinähnlichen Stoff, und durch den Körper, welcher unter gewissen Umständen den Zellkern bei höheren Arten nachahmt und welcher aus

einem Material zusammengesetzt ist, der maskiertes Eisen enthält und sich in vielen Beziehungen wie Chromatin färbt, der aber nicht auf saures Methylgrün reagiert.

Das Resumé der mit dieser Methode erhaltenen Resultate zeigt, dass wo auch immer Chromatin oder chromatinähnliches Material in Zellen gefunden wird, sei es im Kern oder im Cytoplasma, es immer die Reaktion für maskierten Phosphor gibt und dass letzterer fast allgemein mit maskiertem Eisen verbunden ist. Man konnte nicht feststellen, dass die Reaktion immer alle maskierten phosphorhaltigen Verbindungen angreift, und in Anbetracht der Vorherrschaft der Nukleoproteine im Cytoplasma der verschiedenen Zellarten, deren Vorherrschaft sich nicht immer bei dieser Reaktion offenbarte, kann man daran zweifeln, ob das Salpetersäure-Molybdän-Reagens alle organischen Phosphorverbindungen angreift und letzteres als Ortophosphorsäure befreit. Dieser Punkt wird sogleich erörtert werden.

Scott (83), welcher die Reaktion benutzte, fand, dass sie durch die Nisslschen Granula in den Nervenzellen der Wirbeltiere entstand. Diese Granula, deren Ursprung er bis zum Chromatin in der sich entwickelnden Nervenzelle verfolgte, diffundieren aus dem Kern in solchem Masse, dass der Kern allmählich sehr wenig von dieser Substanz enthält, und infolge dessen wird die Reaktion nur in der peripheren Schicht des Nukleolus gegeben. Mackenzie (49) hat früher gefunden, dass diese Granula maskiertes Eisen enthielten.

Bensley benutzte mehr oder weniger ausgiebig die Reaktion, um die Verteilung der organischen Phosphorverbindungen im Cytoplasma in den Brunnerschen Drüsen zu bestimmen, und fand, dass die Sekretionsgranula keine Reaktion geben und deshalb nicht aus Zymogen zusammengesetzt sind, obgleich in der protoplasmatischen Zone eine Menge phosphorhaltigen Stoffes, analog dem Prozymogen anderer Drüsen, vorhanden ist.

In letzter Zeit haben sowohl Scott (234) wie Bensley (203) Zweifel an dem Wert der Reaktion für Phosphor erhoben, soweit organische Verbindungen in Frage kommen.

Bensley fand, dass die blaue Reaktion nicht immer ein Zeichen für das Vorhandensein von organischem Phosphor war, denn sie wurde in den Fibrillen des kollagenen Gewebes erhalten, bei welchem man keinen Grund die Gegenwart von anorganischen oder organischen Phosphorverbindungen anzunehmen hatte. Er fand, dass sie auch in den peripheren Teilen der Schnitte, nach kurzer Behandlung mit den Reagenzien, vorkommt, während die übrigen Teile der Präparate nicht so tief angegriffen waren. Diese und andere Tatsachen führten ihn dazu, sorgfältig die Grundlagen der Reaktion zu untersuchen. Er bereitete reine Molybdänsäurelösungen, welche, mit salzsaurem Phenylhydrazin geprüft, eine sofort blaue, allmählich in der Farbe dunkler werdende Reaktion gaben und einen blauen Niederschlag bildeten.

in Alkohol fixierte Gewebsschnitte und mit Molybdänsäurelösungen behandelte nahmen die Säure auf und es zeigte sich eine diffuse blaue Reaktion im Cytoplasma, eine stärkere in den Kernen, aber die Menge der absorbierten Molybdänsäure war, ausser in dem kollagenen Gewebe, nicht gross.

Er stellte fest, dass die Menge der absorbierten und von einem Gewebe zurückgehaltenen Molybdänsäure vermehrt wird, wenn man der Lösung entweder Salpeter- oder Salzsäure zusetzt, und infolgedessen bringt das Phenylhydrazin eine grünlichblaue Reaktion im ganzen Präparat und eine tiefer blaue Reaktion in den kollagenen Elementen hervor.

Als Resultat dieser Untersuchungen folgerte er, dass, wenn man das Reagens auf ein Präparat eine Zeitlang wirken lässt, die entwickelte Reaktion von der Molybdänsäure allein herrührt und keineswegs mit irgend einer durch das Reagens frei gemachten Phosphorsäure verbunden ist.

Er versuchte zu bestimmen, dass wenn Salpetersäure in einem bestimmten Verhältnis vorhanden ist, sie die Reduktion der absorbierten Molybdänsäure, aber nicht die der vorhandenen Phosphormolybdänsäure verhindern würde. Er fand, dass wenn die Phenylhydrazinlösung 0,1% stark war, die erforderliche Salpetersäure um die Reduktion für das blaue Oxyd des Molybdän zu verhindern, direkt mit der Konzentration der Molybdänsäure variierte, aber konstant mit jeder gegebenen Konzentration war und dasselbe war der Fall mit Ammonium-Molybdänlösungen. Die Menge der erforderlichen Säure war immer geringer als die, welche notwendig ist, um die Reduktion des Phosphormolybdäns zu verhindern. Z. B. waren in einer 2,0%igen Ammonium-Molybdänlösung 5,6% Salpeter notwendig, um die Reduktion zu verhindern, aber es waren mehr als 14% nötig, um dasselbe bei einer 0,4%igen Phosphormolybdänsäurelösung zu tun, und bei Phosphormolybdänkristallen von im Wasser suspendiertem Ammoniak trat die Reduktion in Gegenwart von über 36% Salpetersäure ein.

Diese Unterscheidungsmethode wandte er bei Präparaten an (Gewebsschnitten), welche mit Molybdänsäurelösungen und dem Salpeter-Molybdänreagens behandelt worden waren, und er stellte fest, dass wenn die vorhandene Salpetersäure 16,37% betrug, die Reduktion in keinem der Gewebe auftrat, obgleich andere mit Phosphorsäure imprägnierte Präparate, welche dann mit dem Salpeter-Molybdänreagens behandelt worden waren und deshalb die Phosphormolybdänsäureverbindung enthielten, unter denselben Bedingungen eine deutliche Reduktion gaben.

Bensley schloss aus diesen Resultaten, dass wenn das Salpeter-Molybdänsäurereagens den Phosphor der organischen Verbindungen frei macht, letzterer nicht in jedem Fall in situ als Phosphormolybdän niedergeschlagen wird. Er erklärt die gewöhnliche mit dem Phenylhydrazin erhaltene Reaktion als von der von dem Eiweiss der Gewebe absorbierten Molybdänsäure zu-

stande gebracht und nicht in jedem Fall von dem in Phosphorsäure verwandelten organischen Phosphor stammend.

Scott erforschte die Frage, ob die Salpetersäure des Salpeter-Molybdänreagens den Phosphor der organischen Verbindungen in den Geweben als Phosphorsäure befreit. Zu diesem Zwecke bereitete er eine Art des Reagens, in welchem die Salpetersäure durch Salzsäure ersetzt wurde. Dies geschah, um die gelbe Xanthoproteinwirkung der Salpetersäure los zu werden. Er behauptete, dass das modifizierte Reagens so empfindlich ist wie das ursprüngliche. Wenn Gewebsschnitte damit, selbst während mehrerer Tage, behandelt wurden, wurde in keinem Teile derselben eine gelbe Farbe erzeugt, vorausgesetzt, dass vorher Sorge getragen worden ist, jede Spur von anorganischen Phosphaten aus dem Präparat zu entfernen. Dies beweist, dass das Reagens keinen Phosphor als Phosphorsäure aus den organischen Verbindungen frei macht.

Um zu bestimmen was geschieht, wenn man Salpeter- oder Salzsäure auf organische Phosphorverbindungen wirken lässt, behandelte er Mengen von gehacktem Stoff von den Testikeln des Ochsen mit jeder der Säuren und bestimmte am Ende sukzessiver Perioden sowohl die Menge anorganischer Phosphate wie die Menge aufgelösten Phosphors in einer nicht organischen Form. Das erhaltene anorganische Phosphat war gering an Menge und es wurde von ihm dem zugeschrieben, was vor der Behandlung im Gewebe vorhanden war, und nicht von den organischen Phosphorverbindungen abgeleitet. Wenn mit Alkohol koaguliertes und, um Lezithin zu entfernen, mit heissem Alkohol und Äther extrahiertes Material mit Salpetersäure (12,6%) behandelt wurde, blieben die anorganischen Phosphate konstant, während die löslichen organischen Phosphorverbindungen mit der Dauer der Behandlung zunahmen. Wenn ferner alle organischen Phosphate aus dem Material durch Extraktion mit Wasser entfernt worden sind, gab die Behandlung des Restes keinerlei anorganische Phosphate.

Eine weitere von Scott aufgestellte Behauptung in dieser Richtung ist die, dass, wenn eine Menge des Hodenmaterials, welches mit Alkohol koaguliert und extrahiert worden ist, um Lezithin und anorganische Phosphate zu entfernen, mit entweder Schwefel- oder Salzsäure auf einem Wasserbade hydrolysiert wird, die Lösungen organische Phosphorverbindungen, aber keine Phosphorsäure enthalten.

Es ergibt sich aus den Untersuchungen von Scott und Bensley, dass die ganze Frage vom organischen Phosphor in den Geweben von neuem erforscht werden muss und auf eine solche Weise, dass das Endresultat keinen Zweifel mehr zulässt. Es gibt Schwierigkeiten in der Art, ihre Resultate als endgültig anzunehmen, besonders die von Scott, denn wenn seine Beobachtungen ganz richtig sind, so sind einige Ansichten, welche man in bezug auf die Art und Weise, in welcher der Phosphor in Nukleinverbindungen ge-

bunden ist, hat, falsch. Ferner stehen die Resultate seiner Untersuchungen über das Vermögen der Säuren wenigstens einen Teil des Nukleinphosphors als Phosphorsäure frei zu machen, entgegen denjenigen von Kossel (215), Osborne und Harris (227), Schmiedeberg (233) und Iwanoff (212).

Osborne und Harris fanden, dass wenn man Tritico-Nukleinsäure mit einer 1,5%igen Salzsäurelösung während 30 Minuten erwärmt, etwas Phosphor als Phosphorsäure frei gemacht wird, und dass Erwärmen einer anderen Menge der Substanz mit 2,0% Schwefelsäure 22,80% ihres Phosphors als Phosphorsäure abgab. Schmiedeberg erwärmte die aus den Köpfen der Spermatozoen des Lachses erhaltene Nukleinsäure während einer halben Stunde mit 0,5%iger Salzsäurelösung und erhielt 11,43% der theoretisch möglichen 19,9% des vorhandenen P_2O_5. Iwanoff fand, dass Salpetersäure allein (nicht konzentriert) oder die Stärke der Säure in dem Salpeter-Molybdänreagens den Phosphor des isolierten Legumins und des pflanzlichen Kaseins als Phosphorsäure schnell frei macht.

Die in den Untersuchungen von Kossel, Osborne, Harris, Schmiedeberg und Iwanoff mitgeteilten Verbindungen sind zugestandenermassen einfacher als die gewöhnlich in tierischen und pflanzlichen Geweben gebildeten phosphorhaltigen, aber, wie gezeigt werden wird, geben selbst die kompliziertesten Verbindungen ihr Phosphor als Phosphorsäure bei Behandlung mit Salpetersäure ab.

Ehe wir fortfahren die Resultate von Bensley und Scott zu besprechen, wird es nützlich sein die Tatsache hervorzuheben, dass wenn ein Präparat eines tierischen oder pflanzlichen Gewebes bei Behandlung mit dem Salpeter-Molybdänreagens eine gelbe Farbe an irgend einem Punkte gibt, es keineswegs beweist, dass die Phosphormolybdänverbindung dort vorhanden ist. Die gelbe Farbe kann von der Xanthoproteinwirkung der Salpetersäure herrühren. Andererseits folgt absolut nicht daraus, dass das Fehlen von Gelb, sei es, dass das Reagens Salpeter- oder Salzsäure enthält, das Fehlen von Phosphormolybdänsäureverbindungen bezeichnet. Das wäre eine Voraussetzung, die ein gewisses Risiko in sich schlösse. In den „gelben" Phosphormolybdänsäuren gibt es gewöhnlich für je 1 Molekül P_2O_5 18—24 Moleküle Mo_3O_3; aber es gibt auch die „weisse" Varietät, bei welcher für jedes Molekül P_2O_5 nicht mehr als 5 Moleküle MoO_3 sind. Mit anderen Worten sind die Phosphormolybdänsäuren nur gelb gefärbt, wenn es mehr als 5 Moleküle MoO_5 zu jedem Molekül P_2O_5 gibt. Diese „weissen" Verbindungen werden gebildet, wenn man Molybdänsäure[1]) in bestimmten Konzentrationen auf Lösungen wirken lässt, z. B. von Mono-, Di- und Trikalium-Phosphaten.

Dieser Punkt ist wertvoll, denn wenn man eine kleine Menge des Salpeter-Molybdänreagens einer verdünnten Phosphorsäurelösung zusetzt, kann

[1]) Siehe Friedheim: Die sog. „Phosphormolybdänsäuren und ihre Salze". Leit. für anorg. Chem. Vol. 4. p. 274, 1893.

die gelbe Farbe entweder gar nicht erscheinen oder entwickelt sich erst nach einigen Minuten und doch enthält die farblose Lösung die weissen Verbindungen, welche durch Kondensierung mit freien M_0O_3-Molekülen „gelbe" Phosphormolybdänsäuren werden (Friedheim).

Das Chromatin und andere Stoffe in Gewebspräparaten, welche organischen Phosphor enthalten, sind in fester Form und natürlich kann schon das allein die Bildung von weissen „Salzen" beeinflussen und die Kondensation verzögern, welche die Bildung der „gelben" Verbindung hervorbringt. Friedheim fand, dass, obgleich die Kaliumphosphate unter gewissen Bedingungen die „weissen" Phosphomolybdänsäuren geben, die Natriumphosphate unter denselben Bedingungen die „gelben" Verbindungen erzeugen. Wir können deshalb nicht die Möglichkeit ausschliessen, dass „weisse" Phosphomolybdänsäuren in den Geweben vorkommen.

Ein viel ernsterer Punkt ist der, dass die aus dem Behandeln der Gewebsmassen mit Salpeter- oder Salzsäure, wie Scott es tat, gewonnenen Resultate eine andere Erklärung zulassen als die eine, die er daraus zog. In solchen Gewebsmassen machen die Nukleine nur einen kleinen Teil aus, nicht mehr als 5% des getrockneten Restes und infolgedessen wird die verwandelnde Energie der benutzten Säure grossenteils für die anderen Verbindungen als wie für die wahren Nukleine erschöpft.

Dies wird von den Versuchen von Iwanoff unterstützt, der beobachtete, dass, obgleich das Salpeter-Molybdänreagens den Phosphor des Legumins und des pflanzlichen Kaseins, wenn isoliert, frei machen und als Phosphorsäure offenbaren würde, nur Spuren in ähnlicher Weise nachweisbar waren, wenn man das Reagens auf die Samen, welche diese Nukleoproteine enthielten, wirken liess.

Dass wahre Nukleoproteine auf Salpetersäure reagieren und Phosphor als Phosphorsäure frei machen, ergibt sich aus den Resultaten der kürzlich von Macallum (221) angestellten Versuche. Er fand, dass, wenn man 10—30% starke Salpetersäure auf vollkommen gereinigte Mengen des Hammarstenschen eisenhaltigen Nukleoproteins, welches im Pankreas vorkommt, wirken lässt, dann beginnt die Bildung der Phosphorsäure selbst bei Zimmertemperatur in einigen Minuten und fährt fort, bis nach 24 Stunden die Lösung eine leicht nachweisbare Menge von Phosphorsäure enthält. Mit stärkeren Salpetersäurelösungen wird die Umwandlung des organischen Phosphors in Phosphorsäure schneller bewerkstelligt.

Ein ähnliches Resultat wurde wiederholt mit einer Menge von Hefenukleinsäure erzielt.

Bei Kaseinogen, einer Paranukleinverbindung, war das erhaltene Resultat anders. Nach zweimonatlicher Behandlung selbst mit konzentrierter Salpetersäure bei 35° C wurden nur Spuren von Phosphorsäure in der Lösung

gefunden, aber sie enthielt Mengen von dem, was Scott löslichen Phosphor nennt, d. h. organische Phosphorverbindungen.

Im Präparat des Nukleoproteins aus dem Pankreas gab es vor der Behandlung mit Salpetersäure keine Spur von Phosphaten.

Es steht daher fest, dass Salpetersäure wenigstens einen Teil des maskierten Phosphors in wahren Nukleinverbindungen als Phosphorsäure frei macht, während sie in derselben Hinsicht bei Paranukleinen nur sehr wenig Wirkung besitzt. Dies bezeichnet, wie Macallum hervorhob, einen Unterschied zwischen den beiden Verbindungsarten.

Nach Liebermann (217) kommt der Phosphor in der Nukleinsäure als Metaphosphorsäure vor. Diese Ansicht wurde von Malfatti (222) gestützt, und Ascoli (3) sah die Plasminsäure, welche maskiertes Eisen enthält und ein Abkömmling der Nukleinverbindungen ist, als eine Verbindung an, in welcher sich der Phosphor als Metaphosphorsäure befand. Ascoli nahm auch an, dass in allen Nukleinen und Paranukleinen der Phosphor als Metaphosphorsäure vorkommt, aber es gelang ihm nachher (202) nicht, den Beweis für das Vorhandensein von Metaphosphorsäure im Leukonuklein oder im Kaseinogen zu liefern, und Levene und Alsberg (216) haben ganz anders wie Ascoli die Tatsachen erklärt, auf welche er seine Schlüsse gründet, dass Plasminsäure Metaphosphorsäure enthält. Kossel (215) glaubt, dass der Phosphor im Nukleinmolekül als Phosphoranhydrid existiert.

Wie sich die phosphorhaltige Atomgruppe mit den Purin- und Pyrimidinbasen und mit den Kohlehydratgrundstoffen (z. B. Pentose) einerseits und mit den Proteinen andererseits bindet, ist bis jetzt noch unbekannt.

Wenn wir Burians (206) Ansicht annehmen, dass das Phosphoratom in wahren Nukleinen als ein Glied zwischen dem Nitrogen in der siebenten Stellung in der Puringruppe und dem Rest der Nukleinsäure im Nukleinmolekül dient, können wir bis zu einem gewissen Grade verstehen, warum im Kaseinogen, welches keine Purinbasen enthält, der Phosphor weniger empfänglich für einen Eingriff sein sollte.

Es muss jedoch bemerkt werden, dass Burians Ansicht nicht erklärt, warum ein Teil des Phosphors so leicht mit Säuren frei gemacht wird, während das übrige so fest in seiner Lage im Nukleinsäuremolekül bleibt. Osborne und Harris (227) fanden, dass die grösste Menge des als Phosphorsäure aus der Triticonukleinsäure durch halbstündige Behandlung mit 2,0%iger Schwefelsäure befreiten Phosphors 22,8% des vorhandenen Ganzen war und sie glaubten, dass das Maximum, welches auf diese Weise freigemacht werden kann, nicht 25% überschreiten kann. Dies schliesst in sich, dass eines von den vier vorhandenen Phosphoratomen, eine von den drei anderen Atomen verschiedene Stellung im Molekül einnimmt. Sie glauben nichtsdestoweniger, dass Triticonukleinsäure eine Verbindung von vier $P(OH_3)$-Gruppen ist, in welchen die vier Phosphoratome durch drei Sauerstoffatome

vereinigt sind, und die vierzehn Hydroxyle durch Substitution auf sechs reduziert werden, wobei die Substituten Purin- und Pyrimidinbasen und Kohlehydratmoleküle sind, so dass die ganze Verbindung ein Ester der Pentahydroxylphosphorsäure ist. Diese Zusammensetzung ist annähernd derjenigen, welche Bang für Guanylinsäure postulierte, bei welcher die Nukleinsäure von dem Pankreasnukleoprotein stammte. Man muss daher annehmen, dass die phosphorhaltige Atomgruppe an einem Ende der Kette viel empfänglicher für den Eingriff ist, als es die übrigen Gruppen sind.

Schmiedeberg (223) betrachtet die Nukleinsäure der Spermatozoen des Lachses als ein Ester der Phosphorsäure und das ist auch die von Levene und Alsberg (116) gegebene Erklärung von der Konstitution der Vitellinsäure (einer Paranukleinsäure).

Es gibt Tatsachen, welche diese Ansicht der Konstitution der Nukleinsäure stützen. Schmiedeberg fand, dass die Magnesiamischung die Lachsnukleins[illegible] ein weisses Pulver niederschlägt. Ferner stellte Moraszews[illegible]26) fest, dass Magnesiamischung aus Ammoniaklösungen ent[illegible]lin oder Kaseinogen niederschlägt, das Ganze dieser Verbindungen[illegible]gelch[illegible] oder Nadeln von kristallinischem Charakter. Bei langem Stehen zeigen diese Kügelchen und Nadeln die für Magnesiumammoniumphosphatkonkretionen charakteristischen Ecken und Hervorragungen. Iwanoff (212) erhielt dieselben Resultate bei Legumin und pflanzlichem Kasein. Dieser Niederschlag konnte nicht bei Proteinen erhalten werden, die frei von gebundenem Phosphor waren, und die einzig mögliche Erklärung für den Niederschlag ist, dass der Phosphor in den Nukleinverbindungen und in den Phosphorproteinen in irgend einer Form Phosphorsäure ist.

Das Vorkommen der Pentahydroxylform der Phosphorsäure in freiem Zustand ist unbekannt, aber die Ester davon sind von Stokes (236) dargestellt worden und dieses sind feste, beständige Verbindungen. Die Kondensation vieler Moleküle zu einem, wie von Bang (239), Osborne und Harris gefordert worden ist, würde besagen, dass die Beständigkeit der Kombination zunehmen würde und auf diese Weise können die Eigenschaften und der Charakter der Nukleinsäuren erklärt werden.

Die Existenz solcher esterifizierten Phosphorsäuren in Nukleinverbindungen würde ihr Vermögen, sich mit der Molybdänsäure des Salpetersäuremolybdänreagens zu vereinigen und analoge Verbindungen zu den Molybdänphosphaten oder Molybdänphosphorsäuren zu bilden, erklären.

Abgesehen davon ist es jedoch ganz klar, dass die isolierten Nukleinverbindungen die Phosphomolybdänreaktion geben können und obgleich ihr Vermögen, ihren Phosphor als Phosphorsäure frei zu machen auf einen geringen Grad reduziert wird, wenn sie sich in Gewebsmassen befinden oder in grossen Mengen in einem anderen Stoff enthalten sind, hat oder

sollte die freimachende Säure in dünnen Gewebsschnitten, wegen der Empfänglichkeit der darin enthaltenen Nukleinverbindungen, eine ebense grosse Wirkung haben wie in den isolierten, gereinigten Nukleinverbindungen. In den Schnitten kann daher das Vermögen der Salpetersäure 20% des Nukleinphosphors als Phosphorsäure frei zu machen, benützt werden, um die Gegenwart des Elements zu erforschen, vorausgesetzt, dass die gebildete Phosphormolybdänsäure an dem Ort, an welchem der Phosphor frei gemacht wird, niedergeschlagen ist.

Bensleys Irrtum, eine Reduktion in Schnitten zu erhalten, auf welche eine Zeitlang das Salpetersäuremolybdänreagens gewirkt hat und welches mit 0,1%igem salpetersaurem Phenylhydrazin in 16%iger Salpetersäure behandelt worden ist, führte ihn zu dem Schluss, dass entweder der Phosphor nicht frei gemacht worden ist, oder, wenn er es ist, die gebildete Phosphorsäure nicht als Phosphomolybdän niedergeschlagen ist, wenn die Freimachung stattfindet.

Man kann jedoch annehmen, dass ein so verdünntes reduzierendes Reagens wie 0,1%ige Phenylhydrazinlösung in 16%iger Salpetersäure kein Beweis letzter Instanz ist und dass man verschiedene Resultate mit stärkeren Phenylhydrazinlösungen (mehr als 1%) und Säuren hätte erhalten können.

Alles dies ist noch Gegenstand für weitere Untersuchungen und man darf sich nicht mit einem negativen Resultat zufrieden geben, denn die Frage, Nukleine und anderen organischen Phosphor in tierischen und pflanzlichen Zellen zu lokalisieren, ist eine von höchster Bedeutung für die Zellchemie.

So weit wie die in den Zellen gefundenen anorganischen Phosphorverbindungen (Phosphate) in Frage kommen, ist die Phenylhydrazinphosphomolybdänreaktion ausserordentlich empfindlich und entscheidend. Der Verf. hat gefunden, dass sie in dem Reagenzglas die Phosphate offenbart, wenn sie so verdünnt sind, dass der darin enthaltene Phosphor nur 1 in 2600000 der Lösung oder 1 P_2O_5 in 568000 ist.

Diese Reaktion hat es dem Verf. ermöglicht, das Fehlen anorganischer Phosphate in den Kernen der tierischen und pflanzlichen Zellen festzustellen.

Iwanoff (212a), welcher Zymin einige Stunden lang auf Phosphorsäurelösungen, die auch Zucker enthielten, wirken liess, fand, dass eine Synthese dieser Verbindungen vorkam und dass die Säure in eine organische Phosphorverbindung umgewandelt wurde. Der aktive Teil des Zymins ist ein Ferment, welches aus dem Cytoplasma der Hefezelle stammt, und die Hefezelle hat, wie bereits erwähnt, keinen Kern.

Daraus folgt, dass die Nukleine nicht in dem Kern, sondern im Cytoplasma der Zelle aufgebaut werden. Dies steht im Einklang mit dem, was wir von der Synthese anderer in der Zelle gefundenen organischen Verbindungen wissen. Fette kommen niemals, selbst nicht in unendlich kleinen Mengen, innerhalb des normalen Kerns vor, und deshalb werden sie dort nicht aufgebaut; Kohlehydrate in Pflanzenzellen haben ihren Ursprung ausser-

halb des Kernes und es ist immer angenommen worden, dass die Synthese der Proteine eine der Funktionen des Protoplasmas ist, wenigstens in den Epithelzellen der Darmschleimhaut. Wenn Nukleine im Kern aufgebaut werden, so bildet ihr Ursprung darin eine Ausnahme.

Gibt es irgend einen Grund anzunehmen, dass eine solche Ausnahme wahrscheinlich ist?

Wir wissen, dass bei oviparen Tieren das Ei mit Paranukleinen, Verbindungen, aus welchen das Embryo seine Nukleine nimmt, geladen ist. Die Paranukleine müssen natürlich in der sich entwickelnden Larve in wahre Nukleine verwandelt werden, aber das kann das Resultat einer Fermentwirkung sein, denn bei den Amphibien verschwindet das Vitellin der Dotterkügelchen im Cytoplasma, und, wenn man sich auf die Resultate der Anwendung der Färbungsmethoden verlässt, erscheint es nicht als solches im Kerne.

Die Bedeutung des Fehlens der Phosphate im Kern steht in Verbindung mit dem Fehlen der Chloride und des Kaliums in jenem zellulären Organ und wird im folgenden Abschnitt besprochen werden.

VIII. Allgemeine Bemerkungen.

Eine umfassende Übersicht über die von den organischen Salzen in den Lebensprozessen gespielte Rolle kann erst dann möglich sein, wenn deren Verteilung in den verschiedenen Zellarten, tierischen und pflanzlichen, vollkommen bekannt ist. Gegenwärtig gibt es viele Lücken in unserer Kenntnis des Gegenstandes, welche teilweise von dem Mangel an Bemühung, in dieser Richtung zu untersuchen, und teils von dem Mangel an Mitteln, einige der anorganischen Bestandteile der Gewebe zu lokalisieren, herrührt.

Die von dem früheren Mangel an Bemühung herrührende Unzulänglichkeit kann bald verschwinden, aber es ist schwer vorauszusehen, von welcher Quelle Hilfe kommen kann, um die Verteilung des Natriums und Magnesiums und der Kohlen- und Schwefelsäuren in ihrer Verbindung mit dem Lebendigen zu bestimmen. Natrium ist das reichlichste anorganische Element in den Geweben, abgesehen von denjenigen der Muskeln, aber es gibt dort keine Reaktion, welche die Erzeugung einer Farbe oder eines Niederschlags in sich schliesst, der dazu dient, sie in Gewebspräparaten zu lokalisieren. Eine ebenso grosse Schwierigkeit besteht, um Magnesiumsalze, sowie Sulfate und Karbonate zu lokalisieren, denn obgleich diese, unter bestimmten Bedingungen, Niederschläge geben, sind die Reaktionen weder empfindlich, noch bezeichnen die Niederschläge notwendigerweise die ursprüngliche Verteilung der niedergeschlagenen Elemente und Verbindungen.

Obgleich wir nicht imstande sind, direkt die Verteilung dieser anorganischen Elemente festzustellen, kann das Problem auf indirekte Wege angegriffen und teilweise gelöst werden. Nach Natrium sind die reichlichsten Bestandteile der Gewebe zuerst Chlorhalogen und dann Phosphorsäure. Wenn beide vollkommen fehlen, kann man ganz rechtmässig postulieren, dass auch Natrium, Magnesium und Kalium fehlen, aber nicht notwendigerweise Kalzium, welches als ein Sulfat, Karbonat oder als eine organische (maskierte) Verbindung vorhanden sein kann.

Diese Methode führt uns nicht sehr weit, denn wenn Chloride und Phosphate in einer Zellart vorhanden sind, können wir daraus schliessen, dass Natrium und vielleicht Magnesium vorhanden sind, nur dadurch bestimmen wir, dass Kalium und Kalzium fehlen.

So fehlerhaft wie die indirekte Methode ist, ist sie von entschiedener Hilfe bei einer wichtigen Einzelheit. Wie die ausführlichen Untersuchungen in den vorangehenden Seiten zeigen, ist der Kern frei von Chloriden und Phosphaten, sowie von Kalium. Es kann daraus gefolgert werden, dass er auch frei von Natrium und Magnesium, obgleich nicht von Kalzium, ist, aber letzteres ist wahrscheinlich als eine organische Verbindung vorhanden, denn Kalzium wurde in der Asche der von Spitzer, Lönnberg und Halliburton aus der Leber und Niere isolierten Nukleoproteine gefunden, und es kam, nach Mieschers Beobachtungen, in dem Nukleinmaterial der Köpfe der Spermatozoen des Lachses vor. Diese Tatsachen beweisen nicht notwendigerweise, dass Kalzium immer ein Bestandteil des Kernmaterials ist, sondern, dass, wenn es darin ist, es als eine organische Verbindung da ist, und vielleicht ist es selbst dann hauptsächlich in der Kernmembran vorhanden.

Das absolut vollständige Fehlen anorganischer Salze im Kern kann natürlich nicht bewiesen werden. Die mikrochemischen Reaktionen schliessen nicht die mögliche Gegenwart von ausserordentlich kleinen Mengen oder Spuren anorganischen Materials im Kern aus, aber da die Chloride die zahlreichsten von allen anorganischen Salzen in physiologischen Flüssigkeiten und Geweben im allgemeinen sind, ist es klar, dass die Silberreaktion, welche einen Teil Chlorhalogen in 1 600 000 Wasser im Reagenzglas offenbart, praktisch entscheidend in bezug auf sein Fehlen im Kern ist. Wenn die Chloride und Phosphate fehlen und Kalium ausgeschlossen ist, warum sollte angenommen werden, dass Karbonate und Magnesiumsulfate und Natrium vorhanden sind?

Aber dann kann vermutet werden, dass eine organische Verbindung, z. B. Natriumnukleat, vorhanden ist. Vielleicht. Aber warum nicht auch ein Kaliumnukleat? Natürlich ist durch die Kobalthexanitritreaktion das Fehlen von Kalium gefunden worden.

Das Vorkommen von anorganischen Eisensalzen in gewissen Kernen, wie es Schneider beobachtet hat, und das Eindringen der Kupfersalze in die Leberkerne, wie es in Slorotzoffs (152) Untersuchungen gezeigt worden ist, kann nicht angesehen werden, als ob sie eine Ausnahme bilden, denn wie schon erwähnt wurde, ist es die Frage ob die von Schneider benutzten Reagenzien nicht in den Kernen, in welchen er annahm, dass er anorganisches Eisen fand, letzteres aus dem maskierten Zustand befreite. Jedoch selbst wenn das gefundene Eisen vor der Behandlung anorganischer Art war bleibt immer noch zu beweisen, dass die Kerne normal waren.

Die Tatsachen, dass, wenn die Epithelzellen der Darmschleimhaut Eisensalze resorbieren, die Kerne nicht angegriffen werden, und dass, wenn die Leberzelle, wie bei perniziöser Anämie, stark mit anorganischem Eisen beladen ist, nichts von letzterem im Kern gefunden wird, scheinen zu zeigen, dass anorganische Eisensalze nicht die normale Kernmembran durchdringen.

Das Vorhandensein von Kupfer im Kernstoff in Slorotzoffs Versuchen kann als pathologisch und als von der durch die grossen Dosen von Kupfersalzen, welche er den Tieren, die er zu seinen Untersuchungen benutzte, eingab, herbeigeführten Veränderung herrührend, erklärt werden.

Es ist daher nicht zu leugnen, dass anorganische Elemente, wie Kupfer, in den abnormen Kern eindringen können, aber man muss auch zulassen, dass einige, wie Jod und Arsenik, normalerweise im Kernmaterial maskiert werden können. Dies scheint durch die Tatsache gezeigt zu werden, dass Slorotzoff (246) aus den Leberzellen von Tieren, denen eine Zeitlang täglich Mengen von Arsenik gegeben wurde, ein Nukleoprotein, in welchem Arsenik gebunden war, isolierte, aber welches erst nachweisbar war, nachdem es durch Behandlung mit 0,5%iger Essigsäure oder 0,3%iger Salzsäure frei gemacht worden war.

Die Untersuchungen von Justus (243) über das Vorkommen von Jod sind in dieser Verbindung von Interesse. Durch Behandeln von Schnitten von Schilddrüsen und anderen Organen mit Chlorwasser, indem man das Übermass von letzterem entfernte und eine Silbernitratlösung zusetzte, wurden Silberchlorid und Silberjod gefällt. Ersteres wurde aufgelöst, indem man die Schnitte mit einer Natriumchloridlösung extrahierte und letzteres wurde zu rotem Silberjod reduziert, wenn seine Gegenwart entdeckt worden war. Als Resultat seiner Untersuchungen folgert er, dass Jod maskiert in jedem Kern existiert. Seine Tatsachen können angenommen werden, seine Erklärung jedoch nicht, denn es ist nicht sicher, dass das Jod, welches er gefunden zu haben glaubt, in den Kernen vor der Befreiung mit Chlor vorkommt. Es ist jedoch nichts eigentlich Unwahrscheinliches, dass Jod ein Bestandteil des Kernes als eine maskierte Verbindung ist.

Das Vorhandensein der in eine maskierte Form gebundenen Elemente in Nukleoproteinen und dass sie auf diese Weise das Innere des Kernes

erreichen, ist daher etwas sehr verschiedenes von dem Eindringen organischer Salze in die Kernmembram.

Das Vorkommen von anorganischen Salzen im Cytoplasma und ihre vollkommene Ausschliessung aus dem Kern ist eine Tatsache von höchster Bedeutung und wirft ein neues Licht auf die Beziehung von Kern zu Cytoplasma.

Der Faktor, welcher die Ausschliessung zu stande bringt, ist die Kernmembran. Letztere ist durchlässig für gewisse organische Verbindungen, wie sie in den sich entwickelnden Nervenzellen dem Kernchromatin gestattet in das Cytoplasma zu diffundieren, um Nisslsche Granula zu bilden, und im entwickelnden Eierstockei lässt sie den Durchtritt des aus dem Nuklearchromatin stammenden Vitellins in das Cytoplasma zu. Es ist daher eine Membran, welche durchlässig ist für das gewöhnliche oder normale Kernmaterial, aber undurchlässig für anorganische Salze.

Diese Undurchlässigkeit ist in gewissen Fällen auch von anderen beobachtet worden. Hamburger (241) fand, dass, wenn die Darmepithelzellen von verschiedenen Natriumchloridkonzentrationen umspült werden, der Zellkörper höchst durchlässig für Salz ist, aber der Kern wenig oder gar keine Permeabilität zeigt. Dasselbe kann von den Kernen der Ziliarepithelzellen der Trachea und von den Kernen der Epithelzellen der Blase gesagt werden, denn sie nehmen auch an Umfang in dem Masse ab, wie die Konzentration der Salzlösung, mit welcher sie behandelt werden, zunimmt.

Ein beträchtlicher Grad von Undurchlässigkeit muss den Spermatozoen gewisser tierischer Formen zugeschrieben werden. Z. B. jene gewisser Salzwasserfische, z. B. Levia Calaritana, bleiben unbeeinflusst von in hohem Grade konzentrierten Lösungen und jene der Amphibien, deren Wohnort frisches Wasser ist, leben eine lange Zeit in destilliertem Wasser. Andererseits werden die Spermatozoen der Säugetiere und Vögel, welche gewöhnlich bei der Befruchtung direkt von einem Organismus in den anderen, ohne irgend welche Veränderung des osmotischen Druckes zu erfahren, übertragen werden, schnell durch beträchtliche Konzentrationsunterschiede der Salze in Lösung beeinflusst.

Galeotti (240), welcher diese Tatsachen hervorhob, erklärte, dass das Vermögen, Veränderungen des osmotischen Druckes zu widerstehen, eine biologische Eigenschaft ist, die auf dieselbe Weise wie die Adaption an hohe oder niedrige Temperatur oder an starken hydrostatischen Druck erreicht wird, erworben ist.

Es ist jedoch alles eine Frage der Zusammensetzung der einschliessenden Membran. Bei den Spermatozoen der Säugetiere und Vögel ist die Membran des Kopfes von einer derartigen Zusammensetzung, dass sie kein Eindringen von Salzen innerhalb enger Grenzen der Variation der Konzentration zulässt, während

bei Wasserarten die Membran angepasst ist, das Eindringen zu verhindern, wenn der Umfang der Konzentrationsveränderungen der Salze sehr gross ist.

Dass eine Membran für ein Kolloid durchlässig und für ein Kristalloid undurchlässig ist, wie es die Kernmembran hier angeblich illustrieren soll, stimmt nicht mit den herrschenden Auffassungen der physikalischen Chemie, nach welchen eine Membran Kolloide zurückhält und Kristalloide, anorganische Salze z. B., hindurchlässt, überein. Die Membran wird nach diesen Auffassungen nur als ein Sieb angesehen, durch welches Ionen und kleine Molekeln, oder kleine Aggregate von Molekeln passieren können, welches aber die grossen Kolloidpartikel zurückhält. Die Auffassung setzt voraus, dass die Membran nur ein passiver Faktor bei der Osmose ist, die keine andere Rolle spielt, als die, welche ein Sieb bei der Trennung grösserer von kleineren Partikeln spielt.

Diese Auffassung ist niemals sehr nützlich für die Erklärung der physiologischen Vorgänge der Absorption und Diffusion gewesen. Sie ermöglicht es uns nicht, zu verstehen, wie das Eiereiweiss und das Kaseinogen, wenn sie in grossen Mengen in das Duodenum injiziert werden, ihren Weg in das unveränderte Blut und eventuell in den Harn finden können. Sie bietet uns keine Hilfe bei unseren Bemühungen, zu verstehen, wie das Fett aus dem Blut durch die Endothelialzellen der Kapillarwände in die Gewebe passiert, um dort abgelagert oder anderweitig verwendet zu werden.

Andererseits werden die in allen diesen rätselhaften Diffusionen eingeschlossenen Prozesse durch die Beobachtungen von Kahlenberg (244) über Osmose mit anderen Flüssigkeiten als Wasser und anderen Membranen, als die aus Pergament gebildeten, verständlich gemacht. Diese Untersuchungen sind von höchstem Interesse für die Biologen und sie sollten weiterhin bekannt sein, als sie es anscheinend sind.

Erstens zeigen sie, dass die Komposition der Membran ein entscheidender Faktor für die Osmose ist. Er benutzte bei seinen Versuchen Scheidewände aus reinem Gummi und sein Medium oder Lösungsmittel war reines Pyridin. Mit Pyridin nur auf einer Seite der Scheidewand, aber mit demselben Lösungsmittel, welches Rohrzucker und Kupferoleat enthielt, auf der anderen, wurde gefunden, dass das Kolloid, Kupfersalz, frei durch die Scheidewand hindurch ging, aber das Kristalloid, Rohrzucker, zurückblieb. Wenn andererseits Kupferoleat durch Kampfer, das ein Kristalloid ist, ersetzt wurde, ging letzteres durch die Membran, aber der Zucker blieb zurück. Hier wurden zwei Kristalloide durch die Osmose voneinander getrennt. Ferner war Kahlenberg imstande, wie er kürzlich in einer Diskussion vor der Faraday Society (245) feststellte, vermittelst dieser Methode zwei Kolloide voneinander zu trennen.

Die Gummischeidewände in Kahlenbergs Versuchen waren nicht ganz impermeabel für Rohrzucker, denn Spuren davon gingen hindurch und selbst Silbernitrat und Lithiumchlorid diffundierten auch, aber in viel kleineren Verhältnissen als der Rohrzucker. Das bedeutet, dass die Nicht-Elektrolyte, wie durch experimentelle Untersuchung gezeigt worden ist, einen höheren osmotischen Druck als das Elektrolyt, das anorganische Salz, bewirken sollten und es auch wirklich tun.

Als eine Verallgemeinerung seiner Resultate stellt Kahlenberg fest, dass: „ob Substanzen durch die Dialyse voneinander getrennt werden können oder nicht, hängt absolut nicht von ihrer kristallinischen oder nichtkristallinischen Natur ab, wie allgemein angenommen wird, sondern von ihrer Affinität zu der benutzten Scheidewand."

Ob nun Kahlenbergs Verallgemeinerung ohne Vorbehalt angenommen wird oder nicht, so bleibt die Tatsache, dass unter bestimmten Bedingungen die Zusammensetzung der Membran und der Charakter der Lösung oder der Lösungen höchst wichtige Faktoren bei der Bestimmung sind, ob die Osmose eintritt, und das erklärt die Fähigkeit der Kernmembran, anorganische Salze zurückzuhalten und das Kolloid, die eisenhaltigen Nukleine, das Chromatin der Histologen, in den Kern oder aus demselben heraus passieren zu lassen. Die Membran ist aus einem Stoff aufgebaut, um Kahlenbergs Erklärung in diesem besonderen Falle anzunehmen, der eine besondere Affinität für eisenhaltige Nukleine, aber gewöhnlich für keine anderen Verbindungen besitzt.

Da die Nuklearmembran nur oder hauptsächlich für eisenhaltige Nukleine durchlässig ist, ergeben sich daraus mehrere Schlüsse. Einer ist, dass die eisenhaltigen Nukleine, so lange wie sie im Innern des Kernes bleiben, vor chemischer Veränderung, welche von der Wirkung anorganischer und anderer Verbindungen, welche in das Cytoplasma eindringen können, geschützt werden. Ein anderer ist, dass die eisenhaltigen Nukleine von einem gewissen Typus in das Innere des Kernes eindringen, um dort zurückgehalten zu werden, bis sie wo anders gebraucht werden.

Diese beiden, auf die Zusammensetzung und die Eigenschaften der Kernmembran basierten Schlüsse ermöglichen uns, das klar zu verstehen, was die physikalische Grundlage der Heredität ausmacht.

Ein Keimplasma, in dem von Weismann gebrauchten Sinne, kann existieren, aber seine Beständigkeit ist nach der hier geäusserten Ansicht, eine mehr des Typus als der identischen Moleküle, denn die Kernmembrane der Keimzellen suchen oder wählen sich von allen Nucleinen aus den verschiedenen Körperteilen, die solche Keimzellen erreichen, diejenigen von einem bestimmten Typus aus und irgend welche andere Nukleine, die vor-

handen sein können, werden aus den Kernen der Eier und der Samenzellen ausgeschlossen. Solche ausgewählten eisenhaltigen Nukleine übermittein die vererbten, elterlichen Eigenschaften, und um diese Übermittelung in dem Abkömmling fortzusetzen, sorgen sie für die Erhaltung desselben Typus der Kernmembran in den Keimzellen von letzteren.

Die Kernmembrane in anderen Zellarten differieren und differieren je nach dem Typus der Zelle. Die Kernmembran der Pankreaszelle muss von der der Leberzelle verschieden sein, und letztere wieder von der der Nierenzelle, denn die von den drei Organen erhaltenen eisenhaltigen Nukleine differieren voneinander. Jede Pankreaszelle übermittelt jedoch, wegen der Eigenschaften ihrer Kernmembran, wenn sie sich teilt, ihren ererbten Charakter den Tochterzellen auf dieselbe Weise, wie es die Embryokeimzellen tun, und dasselbe kann von anderen Zelltypen gesagt werden. In diesem Sinne kann es nicht eine, sondern viele Somatoplasmen geben.

Geringe Veränderungen in dieser Kernmembran würden für Varianten oder „Abweichungen", wie sie genannt werden, in dem Abkömmling sorgen, aber man kann annehmen, dass die Membran selkst konstant bleibt, obgleich diese Beständigkeit nicht verlangt, dass die eisenhaltigen Nukleine, welche hindurchgehen, einen absolut gleichmässigen Typus haben. Es kann angenommen werden, dass viele Isomere unter den Nukleinen vorkommen, und doch können viele oder alle von ihnen die Affinität für das Material der Kernmembran haben, welche sie befähigt, durch letztere hindurch zu gehen. Miescher hat gezeigt, dass, wenn eine organische Verbindung, z. B. Albumin, wenigstens 40 Kohlenatome hat, dann sind eine Billion Isomere davon möglich und die Zahl kann stark durch Veränderungen in der Lage der Nitrogenatome vergrössert werden. Wie diese Variationen in der Nachkommenschaft gestatten, während sie die Vererbung der allgemeinen Eigenschaften besorgen, braucht nicht erörtert zu werden.

Die Kernmembran hat daher die Übermittelung elterlicher Eigenschaften von Generation zu Generation ermöglicht. Der Kern, die Membran und der Inhalt ist auf diese Weise den Organismen im Kampfe um die Existenz nützlich gewesen, und dies erklärt, warum die Arten der kernhaltigen Formen bei weitem die des nichtkernhaltigen Typus an Zahl übertreffen.

So viel von der Kernmembran als ein bestimmender Faktor für die Vererbung.

Um für einen kurzen Augenblick, und zum Schluss, zu den anorganischen Salzen zurückzukehren, so sind viele Probleme mit der Bestimmung ihrer Verteilung im Cytoplasma der verschiedenen Zellarten verknüpft und diese Bestimmung ihrerseits hängt wieder von den Bemühungen derjenigen ab, welche sich zu dieser Forschungsrichtung hingezogen fühlen. Untersuchungen rein mikrochemischer Art bieten jenen, welche sie geduldig ver-

folgen werden, Resultate, welche sich eventuell als von grundlegender biologischer Bedeutung herausstellen können. Eine solche Untersuchung ist jetzt von dringendster Notwendigkeit. Warum sollte so viel Mühe aufgewandt werden, um die Wirkung anorganischer Salze auf Grund der Ionentheorie zu erklären, wenn möglicherweise keine Ionen an den Stellen in den Zellen vorkommen, wo man von ihnen annimmt, dass sie eine wichtige Rolle spielen?

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Deskriptive Biochemie

mit

besonderer Berücksichtigung der chemischen Arbeitsmethoden.

Von

Dozent Dr. **Sigmund Fränkel**, Wien.

Mit einer Spektral-Tafel. — Preis Mk. 17.—. — Gebunden Mk. 18.60.

Ein in dieser Weise zusammenfassendes Buch besteht noch nicht. Wir müssen daher für dieses Unternehmen dem Autor ausserordentlich dankbar sein.
Prager Med. Wochenschrift.

Das Werk enthält eine Beschreibung der in tierischen Organismen vorkommenden Substanzen, sowie die Methoden der Isolierung, der Synthese und der quantitativen Bestimmung der Substanzen selbst, sowie ihrer Spaltungsprodukte. Die Chemie spielt anerkanntermassen in Physiologie und Pathologie eine so grosse Rolle, dass ohne dieselbe wichtige Kapitel jener unverständlich bleiben oder mit müssiger Spekulation erfasst werden. Das Fränkelsche Werk wird jedem, der praktisch arbeitend die medizinische Chemie sich zu eigen machen will, ein wertvoller Helfer sein. *Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte.*

. . — Im grossen ganzen darf man das neue Werk des durch seine „Arzneimittelsynthese" in weiten Kreisen bekannten Verfassers als bequemes und nützliches Hilfsmittel bei physiologisch-chemischen Arbeiten durchaus willkommen heissen und ihm weite Verbreitung wünschen. *Chemiker-Zeitung.*

Mikroskopie der Harnsedimente

von

Dr. Albert Daiber, Zürich.

Zweite umgearbeitete und vermehrte Auflage.

Mit 130 Abbildungen auf 65 Tafeln. — Preis Mk. 12.60.

. . . . . Alles in allem ein vortrefflich ausgestattetes Werk, das dem physiologischen und bakteriologischen Laboratorium in Zürich zur Ehre gereicht und sich zahlreichen Kollegen als hilfsbereiter Führer erweisen wird.
Deutsche Med. Wochenschrift.

Immunität und Disposition

und ihre

experimentellen Grundlagen.

Von

Prof. Dr. **Martin Jacoby**, Berlin.

Mit zwei Kurven und 5 Abbildungen im Text. — Preis: Mk. 4.60.

Dem auf dem Gebiete der Lehre von den Enzymen (Autolyse) und Toxinen viel erfahrenen Forscher ist es geglückt, auf 137 Seiten, denen sich eine Zusammenfassung des wesentlichen Inhalts der 25 Kapitel und ein Sachregister anschliesst, in knappster Form, aber erschöpfend und fesselnd, die Entwickelung und den Stand unserer Kenntnisse und Anschauungen über Immunität und Disposition zu schildern und durch scharfe Kritik dem Leser ein wertvolles, nach allen Richtungen hin gut durchdachtes und durchgearbeitetes Buch zu bieten. *Therapie der Gegenwart.*

Neuester Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Über das

Verhalten hämolytischer Serumstoffe

beim

gesunden und kranken Kind.

Von Privatdozent Dr. **Ernst Moro** in München.

Mit 15 Abbildungen im Text. — M. 2.80.

Struktur und Plasma.

Von Privatdozent Dr. **Vlad. Ružička** in Prag.

Mit 57 Abbildungen im Text und 1 Tafel. — M. 3.60.

Neue Tatsachen und Theorien

in der

Immunitätsforschung.

Von Dr. **Ernst Sauerbeck** in Basel.

M. 7.60.

Die

HÄMOLYSINE

und ihre

Cytotoxischen Sera.

Ein Rückblick auf neuere Ergebnisse der Immunitätsforschung.

Von Dr. **Hans Sachs** in Frankfurt a. M.

M. 3.—.

Die Milchküchen und Beratungsstellen

im

Dienste der Säuglingsfürsorge.

Von Dr. **J. Trumpp** in München.

Preis M. 3.60.

Die Elektrizität in der Medizin und Biologie.

Von

Professor **Dr. H. Boruttau** in Berlin.

Mit 127 Abbildungen im Text. — M. 6.—.

Druck der Kgl. Universitätsdruckerei von H. Stürtz in Würzburg.